

Zalecenia dot. pobierania materiału do badań wykrywania wirusów grypy: WIRUSA GRYPY (TYP A i B), GRYPY A/H1N1, A H3N2 METODĄ rt REAL TIME PCR

OPRACOWANO NA POTRZEBY PRACOWNI WIRUSOLOGII I SEROLOGII WSSE WE WROCLAWIU NA PODSTAWIE MATERIAŁÓW KRAJOWEGO O ŚRODKA DS. GRYPY NIZP-PZH DOSTĘPNYCH NA STRONIE www.pzh.gov.pl

1. Rodzaj materiału

Wykrywanie wirusa grypy (typy A i B oraz subtypy A/H1N1, A/H3N2) metodą rt RT-PCR.	<ul style="list-style-type: none">- wymaz z gardła- wymaz z nosa- aspirat z nosogardzieli- popłuczyny z drzewa oskrzelowego- płyn mózgowo-rdzeniowy- wysięk z ucha środkowego
--	--

W przypadku wymazu z gardła i nosa wskazane jest dostarczenie łączonej próbki do badań, tj. wymazu z gardła wraz z wymazami z nosa.

W przypadku zajęcia dolnych dróg oddechowych należy zbadać popłuczyny z drzewa oskrzelowego

W przypadku powikłań ze strony układu nerwowego należy zbadać płyn mózgowo-rdzeniowy.

W przypadku zapalenia ucha środkowego należy zbadać wysięk z ucha środkowego.

2. Sposób pobrania, przechowywania i transportu materiału klinicznego

Wszystkie materiały powinny być pobrane i przesłane w szczelnie zamkniętych opakowaniach. Oznakowane w sposób trwały dokładnie, czytelnie, ze zleceniem zawierającym informacje zgodnie ze standardami jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych. Zgodnie ze rutynowo przyjętymi środkami ostrożności w laboratorium mikrobiologicznym wszystkie próbki należy traktować jako materiał potencjalnie zakaźny.

2.1. Wymaz z gardła, wymaz z nosa, wymaz z nosogardzieli

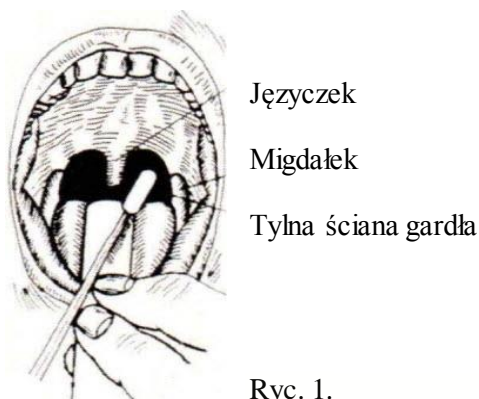
Materiał najlepiej jest pobrać do 7 dnia od momentu wystąpienia objawów choroby. Pobrany materiał należy przechowywać i transportować w pozycji pionowej w temp. chłodni ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$) i dostarczyć do laboratorium tak szybko jak jest to możliwe, najlepiej w ciągu 24 godz. od chwili pobrania. Jeśli dostarczenie próbki w takim czasie nie jest możliwe, wówczas z pobranych materiałów musi być przygotowana zawiesina w objętości ok. 2 ml roztworu soli fizjologicznej lub PBS. Zawiesinę należy przygotować w sterylnej, szczelnie zamykanej probówce, nadającej się do mrożenia w temp. -70°C . Do probówki należy przelać płyn, w którym zawieszono są wymazy, a następnie uzupełnić go do objętości nie więcej niż 2 ml jałowym PBS lub roztworem soli fizjologicznej. Przygotować zawiesinę poprzez przeniesienie każdego z patyczków wymazowych do probówki i energiczne poruszanie patyczkiem wymazowym, tak by materiał kliniczny obecny na patyczku mógł znaleźć się w ten sposób z roztworze. Zawiesinę taką (bez patyczków wymazowych) należy zamrozić w temp. -70°C lub niższej i dostarczyć do laboratorium w warunkach uniemożliwiających rozmrożenie.

Pobieranie wymazów z gardła i nosa.

NALEŻY STOSOWAĆ WYŁĄCZNIE STERYLNE WYMAZÓWKI, WYKONANE W CAŁOŚCI Z TWORZYWA SZTUCZNEGO, Z WACIKIEM Z WŁÓKNA SYNTETYCZNEGO NP. SZTUCZNY JEDWAB, WISKOZA, DACRON ITP. WYMAZÓWKI Z DREWNIANYM PATYCZKIEM oraz

BAWEŁNIANYM WACIKIEM MOGĄ ZAWIERAĆ SUBSTANCJE, KTÓRE INAKTYWUJĄ NIEKTÓRE WIRUSY ORAZ HAMUJĄ REAKCJĘ PCR, W ZWIĄZKU Z CZYM NIE NALEŻY ICH UŻYWAĆ.

a. wymaz z gardła – należy poprosić pacjenta o szerokie otwarcie jamy ustnej. Używając szpatułki docisnąć język ku dołowi, co pozwoli uniknąć kontaminacji wymazu śliną i za pomocą suchego sterylnego patyczka wymazowego energicznie potrzeć obie powierzchnie migdałków oraz tylną ścianę gardła (bez dotykania powierzchni jamy ustnej) zwracając szczególną uwagę na miejsca zapalnie zmienione. Koniec patyczka wymazowego (tuż przy zakrętce) odłamać. Patyczek wymazowy z pobranym materiałem umieścić następnie w jałowej probówce transportowej (bez dotykania wacikiem jej ścianek), z którą został on dostarczony i do której należy dodać ok. 1-2 ml podłoża transportowego wirusologicznego, ewentualnie soli fizjologicznej lub PBS. Tylko wacik patyczka wymazowego musi znajdować się w płynie transportowym. Nie stosować innych podłoży, np. bakteriologicznych (węgiel, agar itp.). Probówkę zakręcić i podpisać. Patrz: ryc. 1.



b) wymazy z nosa (z obu nozdrzy) – należy upewnić się czy przed pobraniem materiału pacjent nie wydmuchiwał nosa. W celu pobrania wymazu należy delikatnie odchylić głowę pacjenta do tyłu i przytrzymać za podbródek. Drugą ręką umieścić koniec suchego sterylnego patyczka wymazowego w prawym nozdrzu pacjenta, równoległe do podniebienia. Pozostawić przez kilka sekund, a następnie powolnym ruchem rotacyjnym wyjąć. Koniec patyczka wymazowego (tuż przy zakrętce) odłamać. Patyczek wymazowy umieścić w probówce, z którą został on dostarczony. Probówkę zakręcić. Wg tej samej procedury za pomocą nowego sterylnego patyczka wymazowego należy pobrać wymaz z lewego nozdrza i umieścić w probówce, której znajduje się już wymaz z prawego nozdrza. Patrz Ryc.2. Do próbówki należy dodać ok. 1-2 ml soli fizjologicznej lub PBS. Tylko waciki patyczków wymazowych muszą znajdować się w płynie transportowym. Nie stosować innych podłoży, np. bakteriologicznych (węgiel, agar itp.). Probówkę zakręcić i podpisać W ten sposób w jednej probówce znajdują się dwa patyczki wymazowe (fot. 1)



Ryc. 02

<p>prawidłowo pobrany wymaz patyczki ułamane przy zakrętce, jedynie zwilżone płynem transportowym</p>	<p>źle pobrany wymaz za dużo płynu transportowego</p>	<p>Źle pobrany wymaz za dużo płynu transportowego i zbyt krótko ułamane patyczki</p>

Fot. 01

c. łączona próbka wymazu z gardła z wymazami z nosa – wymazy z gardła i wymazy z obu nozdrzy należy pobrać zgodnie z opisem w j.w. Wszystkie trzy patyczki wymazowe (wymaz z gardła, wymaz z prawego nozdrza, wymaz z lewego nozdrza) umieścić w jednej próbówce, do której dodać ok. 1-2 ml soli fizjologicznej lub PBS. Tylko waciki patyczków wymazowych muszą znajdować się w płynie transportowym. Nie stosować innych podłoży, np. bakteriologicznych (węgiel, agar itp.). Probówkę zakręcić i podpisać. W ten sposób w jednej próbówce znajdują się trzy patyczki wymazowe.

2.2. Aspirat z nosogardzieli, popłuczyny z drzewa oskrzelowego, płyn mózgowo-rdzeniowy. Każdy z wyżej wymienionych materiałów do badań w objętości 1 ml – 2 ml w jałowej zamkniętej próbówce należy przechowywać i transportować w pozycji pionowej w temp. chłodzi (5±3°C) i dostarczyć do

laboratorium tak szybko jak jest to możliwe, najlepiej w ciągu 24 godz. od chwili pobrania, a jeśli to jest niemożliwe to zamrozić w temp. -70°C lub niższej.

2.3. Wysiłek z ucha środkowego. Próbkę wysięku z ucha środkowego w jałowej zamkniętej probówce należy przechowywać i transportować w pozycji pionowej w temp. chłodni ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$) i dostarczyć do laboratorium tak szybko jak jest to możliwe, najlepiej w ciągu 24 godz. od chwili pobrania, a jeśli to jest niemożliwe to zamrozić w temp. -70°C lub niższej.