

Zasady pobierania i transportu materiału do badań metodami molekularnymi RT PCR w kierunku SARS-CoV-2

Konsultant krajowy w dziedzinie mikrobiologii lekarskiej, Katarzyna Dzierżanowska-Fangrat

Konsultanci wojewódzcy w dziedzinie mikrobiologii lekarskiej:

Tomasz Ozorowski, Krzysztof Burdynowski, Alina Olender, Bonita Durnaś, Gajane Martirosjan, Anetta Bartczak, Marzenna Bartoszewicz, Małgorzata Bulanda, Piotr Wieczorek, Aleksander Deptuła, Joanna Jursa-Kulesza, Jadwiga Ślusarska-Kopala

Ewa Augustynowicz-Kopeć

oraz Anna Mól, Beata Kasztelewicz

6.04.2020

Aktualnie metodami zalecanymi w celu potwierdzenia zakażenia SARS-CoV-2 są metody molekularne, wykrywające materiał genetyczny wirusa (np. RT PCR w czasie rzeczywistym)

Właściwy materiał, prawidłowo pobrany
i odpowiednio przesłany do laboratorium
jest kluczowym elementem diagnostyki laboratoryjnej
SARS –CoV-2

Nieprzestrzeganie tych zasad może prowadzić do
uzyskania fałszywych wyników testu.

Rodzaje materiałów pobieranych do badania RT-PCR w czasie rzeczywistym w kierunku SARS-CoV-2

- Materiałami zalecanymi do badań są:

Z górnych dróg oddechowych:

- wymazy z nosogardła
- wymazy z gardła i błon śluzowych nosa pobierane jednocześnie

- Z dolnych dróg oddechowych:

- plwocina: tylko jeżeli pacjent odkrztusza plwocinę w sposób nie indukowany
- aspiraty tchawicze lub BAL (popłuczyny oskrzelikowo-pęcherzykowe)

UWAGA: Ze względu na znacznie większą czułość badania, jeśli istnieje taka możliwość należy pobierać materiał z dolnych dróg oddechowych (należy przy tym pamiętać, by niepotrzebnie nie zwiększać ryzyka personelu związanego z powstawaniem aerozolu)

Wyposażenie do pobierania materiału w kierunku SARS-CoV-2

- Czerwone worki na odpady medyczne **zakaźne**
- 70% środek alkoholowy do dezynfekcji rąk
- Środek alkoholowy do dezynfekcji powierzchni
- Chusteczki nasączone preparatem na bazie alkoholu
- Zestaw środków ochrony indywidualnej
- Zestawy do pobierania próbek, szpatułka, marker
- Opakowania do transportowania próbek do laboratorium

Zestaw środków ochrony indywidualnej

- Rękawiczki jednorazowego użycia (niejałowe)
- Fartuch ochronny:
 - podfoliowany lub flizelinowy z zewnętrznym foliowym
 - zawsze w przypadku wymazu z nosa i gardła
 - zawsze, gdy spodziewany jest bezpośredni kontakt ubrania osoby pobierającej z chorym
 - flizelinowy bez podfoliowania
 - w przypadku wymazów z nosogardła i bez kontaktu z chorym
- Maski
 - w przypadku pobierania wymazu z nosogardła lub wymazu z nosa i gardła, jeśli są dostępne, należy stosować maski typu FFP2/FFP3. Jeśli ich brak, należy stosować maski chirurgiczne. Maskę należy założyć dbając o jej odpowiednie ułożenie oraz ściśle dopasowanie do krzywizny twarzy; gumki lub tasiemki maski nie powinny się krzyżować.
 - w przypadku pobierania aspiratu tchawiczego lub BAL należy stosować maski FFP2/FFP3
- Przyłbica lub okulary ochronne lub gogle
- Stosowanie specjalnego obuwia lub ochraniaczy na obuwiu nie jest wymagane

Liczba osób pobierających materiał

- Ze względu na ograniczone środki ochrony osobistej należy prowadzić technikę pracy tak, aby do bezpiecznego pobrania wystarczyła jedna osoba stosująca właściwe środki ochrony osobistej

Zestawy do pobierania próbek z górnych dróg oddechowych

Zestawy komercyjne

- zawierają giętką flokowaną wymazówkę z tworzywa sztucznego oraz probówkę z podłożem wirusologicznym

Zestawy tzw. „*home made*” (do wymazów z gardła i nosa)

- powinny zawierać jałowe flokowane lub standardowe wymazówki wykonane z tworzywa sztucznego z wacikami z dakronu, wiskozy lub sztucznego jedwabiu oraz probówki z jałowym, buforowanym roztworem soli fizjologicznej (w ilości pozwalającej na zanurzenie końcówki wymazówki – ryc.)

UWAGA: wymazówki z alginianu wapnia są niedopuszczalne



Pobranie materiału z nosogardła:

Giętką wymazówkę należy umieścić tak głęboko, jak to tylko możliwe

Rotacyjnie obrócić ją 3-krotnie lub przez 5-10 sekund

Czynność powtórzyć w drugim nozdrzu



Pobieranie wymazu z gardła i nosa

Wymazy można pobrać dwiema lub jedną wymazówką

W przypadku stosowania dwóch wymazówek:

Pierwszą wymazówką pobierany jest wymaz z gardła, drugą - z obu nozdrzy przednich

Po pobraniu pierwszą wymazówkę należy włożyć do próbówki z podłożem płynnym wirusologicznym / solą fizjologiczną i złamać wystającą z próbówki końcówkę; następnie pobrać materiał drugą wymazówką i włożyć ją do tej samej próbówki, a następnie szczelnie zakręcić próbówkę

W przypadku stosowania jednej wymazówki:

Najpierw należy pobrać wymaz z gardła i następnie tą samą wymazówką po kolei z obu nozdrzy przednich.

Po pobraniu wymazówkę należy włożyć do próbówki z podłożem płynnym wirusologicznym/ solą fizjologiczną i złamać wystającą końcówkę, a następnie szczelnie zakręcić próbówkę

Uwaga: należy zwrócić uwagę na bezpieczne ułamanie końcówki wymazówki



**Zestaw do pobierania tzw.
„home made”**

Pobieranie wymazu z gardła – równocześnie przy pobraniu wymazu z nosa

Przycisnąć szpatułką język

Dotrzeć do tylnej ściany gardła

Pobrać materiał poprzez rotacyjne pocieranie tylnej ściany gardła bez dotyknięcia powierzchni jamy ustnej, migdałków i języka

Pobieranie wymazu z nosa

Delikatnie wprowadzić wymazówkę przez nozdrza przednie tak głęboko jak to możliwe, następnie przez 5 do 10 sekund ruchem rotacyjnym pobrać materiał

W ten sam sposób tą samą wymazówką pobrać materiał z drugiego otworu nosowego

Przygotowanie do pobrania materiału

Osoba pobierająca:

- Przygotowuje zestaw do pobierania oraz transportu próbki
- Opisuje opakowanie zasadnicze danymi pacjenta – imieniem, nazwiskiem i nr PESEL
- Dezynfekuje ręce
- Zakłada fartuch ochronny
- Zakłada maskę
- Zakłada przyłbicę
- Zakłada rękawiczki ochronne jednorazowego użycia – powinny zachodzić na rękawy fartucha

Postępowanie po pobraniu

Osoba pobierająca

- Zdejmuje rękawiczki i wyrzuca je do worka lub pojemnika na odpady medyczne
- Dezynfekuje ręce i zakłada czystą parę rękawiczek
- Ściąga fartuch ochronny nie dotykając jego powierzchni zewnętrznej i wyrzuca go do pojemnika na odpady medyczne
- Ściąga przyłbicę i dezynfekuje ją przy pomocy chusteczek nasączonych środkiem alkoholowym
- Zdejmuje rękawice
- Dezynfekuje ręce
- Zakłada świeże rękawice
- Pakuje pobrany materiał do opakowania wtórnego (w opakowaniu wtórnym może znajdować się kilka opakowań zasadniczych)
- Dezynfekuje powierzchnię opakowania wtórnego przy pomocy chusteczek nasączonych środkiem alkoholowym i umieszcza go w opakowaniu zewnętrznym.
- Zdejmuje rękawiczki
- Dezynfekuje ręce
- Zdejmuje maskę chirurgiczną i wyrzuca do pojemnika na odpady medyczne **zakaźne (czerwony worek)**
- Dezynfekuje ręce

Technika zakładania i zdejmowania środków ochrony osobistej dostępna w materiale :

ECDC Technical Document: Guidance for wearing and removing personal protective equipment in healthcare settings for the care of patients with suspected or confirmed COVID-19 February 2020

<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/COVID-19-guidance-wearing-and-removing-personal-protective-equipment-healthcare-settings-updated.pdf>

Zlecenie na badanie

Do każdej próbki należy dołączyć zlecenie na badanie, które oprócz danych pacjenta (w tym adres i telefon kontaktowy) powinno zawierać dane jednostki kierującej, lekarza zlecającego i osoby pobierającej materiał oraz datę i godzinę pobrania.

Jeśli jest to możliwe, wskazane jest przesłanie zlecenia w formie elektronicznej.

Transport materiału do laboratorium

W czasie transportu pobranych próbek do laboratorium (tak jak w przypadku innych materiałów potencjalnie zakaźnych) obowiązuje zasada potrójnego opakowania

- **opakowanie pierwsze – zasadnicze** stanowią wymazówki z pobranym materiałem umieszczone w **zakręcanej** próbówce lub **zakręcane** pojemniki zawierające materiał z dolnych dróg oddechowych
- **opakowanie drugie - wtórne** to zakręcany plastikowy pojemnik najlepiej ze znakiem BIOHAZARD lub próbówka typu falcon
- **opakowanie trzecie - zewnętrzne** stanowi termotorba lub skrzynka transportowa, oznaczone piktogramem BIOHAZARD



**Przykłady opakowań
wtórnych**

Transport materiału do laboratorium

- Materiał powinien zostać niezwłocznie dostarczony do laboratorium,
- Jeśli istnieje konieczność przechowywania lub transportu materiału, należy przestrzegać n/w warunków przechowywania i transportu:

rodzaj materiału	zalecana temperatura przechowywania/ transportu
wymaz z nosogardła lub wymaz z nosa i gardła (medium transportowe – VTM*)	≤5 dni 2-8 °C jeżeli >5 dni -70 °C (suchy lód)
wymaz z nosogardła lub wymaz z nosa i gardła („home-made”)	≤2 dni 2-8 °C jeżeli >2 dni -70 °C (suchy lód)
BAL, aspirat z tchawicy, plwocina (nieindukowana)	≤2 dni 2-8 °C jeżeli >2 dni -70 °C (suchy lód)

* viral transport medium

Materiał źródłowy

- PZH-NIZP: Wymagania dotyczące pobrania i transportu materiału do badań metodą RT-PCR w kierunku zakażeń układu oddechowego powodowanych przez koronawirusy (SARS; MERS; SARS-CoV-2 – COVID-19).
- CDC Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Persons for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)
- WHO: Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases Interim guidance 19 March 2020
- <https://www.gov.uk/government/publications/wuhan-novel-coronavirus-guidance-for-clinical-diagnostic-laboratories/laboratory-investigations-and-sample-requirements-for-diagnosing-and-monitoring-wn-cov-infection>