

## Instrukcja pobierania, przygotowania, przechowywania i transportu materiałów do badań w ZGiIK, pobieranych przez zleceniodawców zewnętrznych

	Badanie	Materiał
1	Analiza cytologiczna i immunologiczna popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych	Płyn z BAL
2	Aktywność enzymu konwertującego angiotensynę (ACE)	Krew żylna pobrana na skrzep, surowica
<b>Diagnostyka molekularna raka płuca</b>		
3	Mutacje w genie <i>EGFR</i>	FFPE, rozmaz
4	Rearanżacja genu <i>ALK</i>	FFPE
<b>alfa1-Antytrypsyna (A1AT)</b>		
5	Stężenie A1AT	Krew żylna pobrana na skrzep, surowica
6	Diagnostyka wrodzonego niedoboru A1AT (fenotypowanie/genotypowanie)	Krew żylna EDTA
<b>Diagnostyka infekcji wirusowych układu oddechowego oraz pneumocystodozy (PCP)</b>		
7	Wykrywanie obecności antygenów siedmiu wirusów oddechowych: wirusa grypy typ A i typu B; wirusa para grypy typu 1, 2, 3; syncytialnego wirusa oddechowego, adenowirusa. met. immunofluorescencji	Wymaz z gardła <sup>1</sup>
8	Wykrywanie i identyfikacja wirusa grypy typu A i podtypu AH1N1 oraz grypy typu B, met. real-time PCR	Wymaz z gardła <sup>1</sup> Wymaz z gardła <sup>2</sup>
9	Wykrywanie i identyfikacja 21 patogenów oddechowych: Adenowirus (HAdV), Bokawirus (HBoV), Koronawirus ( 229E, HKU1, NL63, OC43), Ludzki metapneumowirus (HMPV), Wirus grypy typu A (podtyp: H1, H3, 2009 H1), Wirus grypy typu B; Wirus paragrypy typu 1, 2, 3, 4; Enterowirus, Rinowirus (HRV), Syncytialny wirus oddechowy (RSV) oraz <i>Bordetella pertussis</i> , <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , met. real-time PCR	Wymaz z gardła <sup>2</sup>
10	<b>CMV</b> - Oznaczanie antygenu pp65 wirusa cytomegalii, met. immunofluorescencji	Krew żylna EDTA
11	<b>CMV</b> - Wykrywanie sekwencji genu kodującego białko ppUL83 (pp65) wirusa cytomegalii, met. real-time PCR	Krew żylna EDTA, osocze EDTA, płyn m-r, moczu, płyn z BAL
12	Wykrywanie obecności oocyst <i>Pneumocystis jirovecii</i> , met. immunofluorescencji	Plwocina, płyn z BAL
13	Wykrywanie obecności materiału genetycznego <i>Pneumocystis jirovecii</i> , met. real-time PCR	Plwocina, płyn z BAL

<sup>1</sup> wymaz z gardła - wymazówka bez podłoża transportowego

<sup>2</sup> wymaz z gardła - wymazówka + podłoże transportowe

### I. Analiza cytologiczna i immunologiczna popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych

1. MATERIAŁ DO BADAŃ: płyn z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BALF) (*bronchoalveolar lavage fluid*)
2. POBRANIE MATERIAŁU:
  - Przed pobraniem materiału lekarz prowadzący odpowiednio przygotowuje i informuje pacjenta o badaniu,
  - Objętość płynu BAL: co najmniej 50 ml
  - Materiał pobrany do sterylnej, polipropylenowej, jednoznacznie opisanej butelki z zakrętką
3. PRZECHOWYWANIE I TRANSPORT MATERIAŁU:
  - Zabezpieczony materiał do laboratorium należy przekazać **niezwłocznie po pobraniu**,
  - Transport w pozycji pionowej, w zakresie temperatur od +2°C do +4°C
  - materiał nie podlega przechowywaniu – badanie wykonywane tylko w dniu pobrania materiału
  - w wyjątkowych sytuacjach dopuszczalne jest krótkotrwałe przechowywanie - **do 30 minut**, w zakresie temperatur od +2 °C do +8°C (lodówka)

## II. Aktywność enzymu konwertującego angiotensynę (ACE)

1. MATERIAŁ DO BADAŃ: krew żylna pobrana na skrzep, surowica
2. INTERFERENCJE I BŁĘDY PRZEDLABORATORYJNE MAJĄCE WPŁYW NA WYNIK:
  - Hemoliza
  - Bilirubina  $\uparrow$  20 mg/dl, TG  $\uparrow$  1000 mg/dl
  - Inhibitory ACE (EDTA, Captopril, Teprotyny)
3. POBRANIE MATERIAŁU:
  - Po wypoczynku nocnym, między godziną 7:00 a 9:00
  - Pacjent powinien być na czczo – ostatni posiłek lekkostrawny 12 godzin przed pobraniem krwi
  - Przed pobraniem krwi pacjent powinien unikać wysiłku fizycznego i stresu, wskazany 15-minutowy odpoczynek
  - Pacjent, w miarę możliwości, powinien być po ewentualnym odstawieniu leków mogących wpływać na poziom mierzonego składnika, o ile nie zaburza to procesu terapeutycznego
  - Krew pobrana do jednoznacznie opisanej probówki z aktywatorem wykrzepiania lub z granulem lub z żelem separującym; ilość około 4 - 5 ml,
4. PRZECHOWYWANIE I TRANSPORT MATERIAŁU:
  - Pobrany i zabezpieczony materiał należy dostarczyć do ZGiK maksymalnie w ciągu **4 godzin** od pobrania,
  - Transportować w pozycji pionowej, w temperaturze pokojowej (+21 °C do  $\pm$ 4°C).
  - Jeśli konieczne jest wydłużenie czasu przechowywania materiału:
    - materiał wirować w temperaturze pokojowej, 10 minut, 3000 obrotów/minutę (rpm)
    - surowicę rozporcjować po minimum 1 ml, do 2 jednoznacznie opisanych probówek,
    - dostarczyć do laboratorium tego samego dnia - transport w zakresie temperatur: od +2 °C do +4°C (wkład chłodzący) lub zamrozić w temperaturze < -20°C i transportować do ZGiK w warunkach uniemożliwiających rozmrożenie materiału

## III. Diagnostyka molekularna raka

1. MATERIAŁ DO BADAŃ:
  - Do oznaczenia mutacji w eksonach 18-21 genu *EGFR* wykorzystywane są wszelkie dostępne materiały tkankowe i komórkowe w bloczku parafinowym oraz rozmazy.
  - Do oznaczenia rearanżacji genu *ALK* wykorzystane są jedynie materiały tkankowe i komórkowe zatopione w bloczku parafinowym.
4. INTERFERENCJE I BŁĘDY MAJĄCE WPŁYW NA WYNIK:
  - Zbyt długie przetrzymywanie materiału w formalinie
5. POBRANIE MATERIAŁU:
  - Materiał pobierany jest przez lekarza, a następnie opracowywany wg procedur obowiązujących w danej jednostce kierującej na badanie
  - **Materiał przesyłany do Zakładu Genetyki i Immunologii Klinicznej IGiChP:**
    - do każdego bloczka należy dodatkowo dołączyć preparat mikroskopowy barwiony HE oraz kopię oceny histopatologicznej zawierającej rozpoznanie. Dodatkowa informacja o odsetkowej zawartości komórek nowotworowych w stosunku do innych komórek jądrzastych w materiale pozwala na znaczne skrócenie czasu badania genetycznego.
    - Bloczek i preparat mikroskopowy są zwracane razem z wynikiem badania.
    - Do badania molekularnego rozmazu cytologicznego wykorzystywany jest cały materiał, szkiełko nie jest zwracane.
    - transportowany jest na koszt Zakładu Genetyki i Immunologii Klinicznej za pośrednictwem firmy kurierskiej TNT – tel. (22) 771-71-71; przy składaniu zamówienia należy podać nr klienta 2454.
    - materiał zabezpieczyć przed ewentualnym uszkodzeniem, transport w temperaturze pokojowej.
  - Jeśli **materiał diagnostyczny** znajduje się w **Zakładzie Patomorfologii IGiChP:**
    - skierowanie należy wysłać faxem pod nr (22) 43-12-358.
    - na skierowaniu konieczna jest adnotacja zwierająca numer materiału podany na wyniku badania histopatologicznego wydanego przez Zakład Patomorfologii IGiChP.
5. CZAS OCZEKIWANIA NA WYNIK:
  - Oznaczenie mutacji genu *EGFR* jest wykonywane zwykle w czasie 5-10 dni roboczych.
  - Oznaczenie rearanżacji genu *ALK* jest wykonywane w ciągu dodatkowych 5-10 dni roboczych. Ocena rearanżacji genu *ALK* jest przeprowadzana wyłącznie po uprzednim wykluczeniu obecności mutacji genu *EGFR* (wynik ujemny) w nadesłanym materiale.

## alfa1-Antytrypsyna (A1AT)

### IV. STĘŻENIE A1AT

1. MATERIAŁ DO BADAŃ: krew żylna pobrana na skrzep, surowica
2. INTERFERENCJE I BŁĘDY PRZEDLABORATORYJNE MAJĄCE WPŁYW NA WYNIK:
  - Hemoliza
  - Bilirubina  $\uparrow$  30 mg/dl, TG  $\uparrow$  1000 mg/dl
3. POBRANIE MATERIAŁU:
  - **jak w pkt. II.3.**
4. PRZECHOWYWANIE I TRANSPORT MATERIAŁU:
  - **jak w pkt. II.4.**

### V. DIAGNOSTYKA WRODZONEGO NIEDOBORU A1AT

1. MATERIAŁ DO BADAŃ: Krew żylna pobrana na EDTA
2. POBRANIE MATERIAŁU:
  - Krew pobrana w ilości około 4 - 5 ml, do jednoznacznie opisanej probówki
  - Próbkę natychmiast po pobraniu należy ostrożnie, ale dokładnie wymieszać (4-5 krotnie obrócić o 180°C).
3. PRZECHOWYWANIE I TRANSPORT MATERIAŁU:
  - Pobrany i zabezpieczony materiał biologiczny, należy jak najszybciej po pobraniu transportować w pozycji pionowej, w zakresie temperatur +2 °C do +4°C (wkład chłodzący),
  - maksymalny czas od pobrania do dostarczenia do laboratorium - **4 godziny**,
  - **Materiał do badania w kierunku niedoboru A1AT** nie podlega przechowywaniu
    - jeżeli materiał nie może być dostarczony do ZGiIK w ciągu 4 godzin, pobrany materiał należy opracować i transportować zgodnie z „**Instrukcją nanoszenia próbki krwi żylną na bibułę**”, Załącznik nr 3 do SOP ZGiIK/002

## DIAGNOSTYKA INFЕКCJI WIRUSOWYCH UKŁADU ODDECHOWEGO ORAZ PNEUMOCYSTODOZY (PCP)

### VI. Wykrywanie obecności antygenów siedmiu wirusów oddechowych, met. immunofluorescencji

1. MATERIAŁ DO BADAŃ: wymaz z gardła
2. WARUNKI POBRANIA MATERIAŁU:
  - Materiał pobrać z tkanek zmienionych chorobowo najlepiej zaraz po wystąpieniu objawów klinicznych, przed zastosowaniem leczenia; materiał można pobierać do 5 dnia od momentu wystąpienia objawów choroby
  - pobierać sterylną suchą wymazówką, wykonaną w całości **ze sztucznego tworzywa**: plastikowy patyczek z wacikiem z włókna syntetycznego (sztuczny jedwab, wiskoza, dakron) **bez podłoża transportowego**. Stosować wymazówki certyfikowane IVD CE.
    - \*wymazówki z drewnianym patyczkiem oraz bawełnianym wacikiem mogą zawierać substancje, które inaktywują niektóre wirusy oraz hamują reakcję PCR – możliwość fałszywie ujemnego wyniku
3. POBRANIE MATERIAŁU:
  - 3.1. Po uprzednim przepłukaniu jamy ustnej i gardła wodą.
  - 3.2. Głowę pacjenta delikatnie odchylić do tyłu. Poprosić pacjenta o szerokie otwarcie jamy ustnej. Używając szpatułki docisnąć język ku dołowi (uniknięcie kontaminacji wymazu śliną).
  - 3.3. Suchą, sterylną wymazówką energicznie potrzeć miejsca zapalnie zmienione - obie powierzchnie migdałków oraz tylną ścianę gardła (bez dotykania powierzchni jamy ustnej i języka).
  - 3.4. Wymazówkę umieścić w odpowiedniej, jednoznacznie opisanej probówce i szczelnie zakręcić.
  - 3.5. Do badania należy przesłać materiał pobrany dwukrotnie, tj. **dwiema oddzielnymi wymazówkami**
4. PRZECHOWYWANIE I TRANSPORT MATERIAŁU:
  - Pobrany i zabezpieczony materiał biologiczny, należy jak najszybciej po pobraniu transportować do ZGiIK w zakresie temperatur od +2 °C do +4°C (wkład chłodzący), maksymalny czas od pobrania do dostarczenia do laboratorium - 4 godziny
  - **Materiał** nie podlega przechowywaniu; badanie wykonywane tylko w dniu pobrania materiału,



## VII. Wykrywanie i identyfikacja wirusa grypy typu A i podtypu AH1N1 oraz grypy typu B, met. real-time PCR

1. MATERIAŁ DO BADAŃ: wymaz z gardła.

2. WARUNKI POBRANIA MATERIAŁU:

- Materiał pobrać z tkanek zmienionych chorobowo najlepiej zaraz po wystąpieniu objawów klinicznych, przed zastosowaniem leczenia; materiał do badań met. PCR można pobierać do 7 dnia od momentu wystąpienia objawów choroby
- pobierać sterylną suchą wymazówką, wykonaną w całości **ze sztucznego tworzywa**: plastikowy patyczek z wacikiem z włókna syntetycznego (sztuczny jedwab, wiskoza, dakron) **bez podłoża transportowego**. Stosować wymazówki certyfikowane IVD CE.
  - \*wymazówki z drewnianym patyczkiem oraz bawełnianym wacikiem mogą zawierać substancje, które inaktywują niektóre wirusy oraz hamują reakcję PCR – możliwość fałszywie ujemnego wyniku

3. POBRANIE MATERIAŁU:

- jak w pkt.VI.3

4. PRZECHOWYWANIE I TRANSPORT MATERIAŁU:

- Pobrany i zabezpieczony materiał biologiczny (2 wymazówki), należy jak najszybciej po pobraniu transportować do ZGiIK w zakresie temperatur od +2 °C do +4°C (wkład chłodzący),
  - **maksymalny czas** od pobrania do dostarczenia do laboratorium wynosi **1,5 godziny (! degradacja RNA)**.
  - **Jeśli nie jest możliwy transport w czasie do 1,5 godziny, zaleca się pobranie materiału z zastosowaniem wymazówek i próbek z uniwersalnym podłożem transportowym UTM:**
    - zapewnia bezpieczne przechowywanie materiału w temp. pokojowej (od +18°C do +30°C) do 4h, w temp. od +2°C do +8°C do 3 dni,
    - Pobrany i zabezpieczony materiał biologiczny (**1wymazówka**), należy po pobraniu transportować do ZGiIK w zakresie temperatur od +2 °C do +4°C (wkład chłodzący),
- Rekomendowane wymazówki i próbki z podłożem transportowym UTM, certyfikowane IVD:** "16 x 100mm Screw Cap Tube Containing 3ml of UTM Transport and Preservation Medium, 1 Regular Flocked Swab", Numer katalogowy: 346C, Producent: Copan Italia Spa - Via F. Perotti,10 - Brescia, Italy, www.copaninnovation.com

## VIII. Wykrywanie i identyfikacja 21 patogenów oddechowych, met. multiplex PCR

1. MATERIAŁ DO BADAŃ: wymaz z nosogardła, wymaz gardła, pobranie flokowaną wymazówką

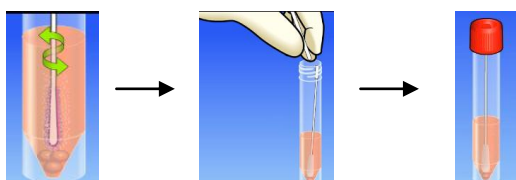
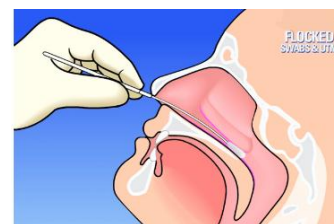
2. WARUNKI POBRANIA MATERIAŁU:

- Materiał pobrać z tkanek zmienionych chorobowo najlepiej zaraz po wystąpieniu objawów klinicznych, przed zastosowaniem leczenia; materiał do badań met. PCR można pobierać do 7 dnia od momentu wystąpienia objawów choroby
  - materiał pobierać z zastosowaniem wymazówek i próbek z uniwersalnym podłożem transportowym UTM, dostępne w Zakładzie Genetyki i Immunologii Klinicznej
- Rekomendowane wymazówki i próbki z podłożem transportowym UTM, certyfikowane IVD:** "16 x 100mm Screw Cap Tube Containing 3ml of UTM Transport and Preservation Medium, 1 Regular Flocked Swab", Numer katalogowy: 346C, Producent: Copan Italia Spa - Via F. Perotti,10 - Brescia, Italy, www.copaninnovation.com

3. POBRANIE MATERIAŁU:

### WYMAZ Z NOSOGARDŁA

- 3.1. Bezpośrednio przed pobraniem wymazu należy ustalić głębokość, na którą należy wprowadzić wymazówkę, w tym celu należy zmierzyć odległości pomiędzy nasadą nosa a małżowiną uszną. Optymalna głębokość wprowadzenia wymazówki jest równa zmierzonej odległości pomiędzy nasadą nosa a małżowiną uszną, a głębokość minimalna jest równa połowie tej odległości (np. zmierzona długość 12 cm – max. 12cm, min. 6 cm)
- 3.2. Głowę pacjenta odchylić delikatnie do tyłu. Wymazówkę delikatnie wprowadzić przez otwór nosowy do jamy nosowo-gardłowej na właściwą głębokość.
- 3.3. Wymazówkę trzymać nieruchomo przez 10 sekund, a następnie delikatnie obracać 2-3 razy wokół własnej osi w celu pobrania materiału z błony śluzowej.
- 3.4. Wymazówkę z pobranym materiałem umieścić w próbce z podłożem transportowym i delikatnie zamieszać, odłamać górną część aplikatora, szczelnie zakręcić a następnie wymieszać zawartość próbki.



### WYMAZ Z GARDŁA

- wymaz pobrać wg pkt.VI. 3.1-3.3.,
- następnie postępować zgodnie z VIII.3.4

#### 4. PRZECHOWYWANIE I TRANSPORT MATERIAŁU:

- Pobrany i zabezpieczony materiał biologiczny (1 wymazówka), należy jak najszybciej po pobraniu transportować do ZGiIK w zakresie temperatur od +2°C do +4°C (wkład chłodzący),
- **pobranie materiału z zastosowaniem wymazówek i próbek z uniwersalnym podłożem transportowym UTM** zapewnia bezpieczne przechowywanie materiału w temp. pokojowej (od +18°C do +30°C) do 4h, w temp. od +2°C do +8°C do 3 dni.

### IX. Wykrywanie obecności *Pneumocystis jirovecii*, met. immunofluorescencji pośredniej, real-time PCR

#### 1. MATERIAŁ DO BADAŃ: Plwocina, płyn z BAL.

#### 2. POBRANIE MATERIAŁU:

##### PLWOCINA ODKRZTUSZONA LUB INDUKOWANA

- Po uprzedniej toalecie jamy ustnej (ewentualnym wyjęciu protezy) i wypłukaniu wodą.
- Objętość materiału: 2 - 4 ml.
- Plwocina pobrana do jałowego, plastikowego, jednoznacznie opisanego pojemnika z pokrywką/zakrętką.  
**! Materiałem do badań jest plwocina. Obecność śliny obniża wartość diagnostyczną pobranego materiału**

##### PŁYN z BAL

- Przed pobraniem materiału lekarz prowadzący odpowiednio przygotowuje i informuje pacjenta o badaniu,
- Objętość płynu BAL: optymalnie 30 ml.
- Materiał pobrany do sterylnej, polipropylenowej, jednoznacznie opisanej butelki /próbówki z zakrętką.

#### 3. PRZECHOWYWANIE I TRANSPORT MATERIAŁU:

- Pobrany i zabezpieczony materiał dostarczyć do ZGiIK **w ciągu 4 godzin**, próbki transportować w pozycji pionowej, w zakresie temperatur od +2°C do +4°C (wkład chłodzący).
- Jeśli konieczne jest wydłużenie czasu przechowywania materiału – próbkę należy zamrozić w temperaturze < -20°C, a następnie transportować do ZGiIK w warunkach uniemożliwiających rozmrożenie

### WYKRYWANIE OBECNOŚCI WIRUSA CMV

#### X. Oznaczanie antygeny pp65 wirusa cytomegalii, met. immunofluorescencji

#### 1. MATERIAŁ DO BADAŃ: Krew żylna pobrana na EDTA

#### 2. POBRANIE MATERIAŁU:

- Krew pobrana w ilości około 4 - 5 ml, do jednoznacznie opisanej próbówki
- Próbkę natychmiast po pobraniu należy ostrożnie, ale dokładnie wymieszać (4-5 krotnie obrócić o 180°C).

#### 4. PRZECHOWYWANIE I TRANSPORT MATERIAŁU:

- Pobrany i zabezpieczony materiał biologiczny, należy jak najszybciej po pobraniu transportować w pozycji pionowej, w zakresie temperatur +2 °C do +4°C (wkład chłodzący),
- maksymalny czas od pobrania do dostarczenia do laboratorium - **4 godziny**,
- Materiał do badania nie podlega przechowywaniu

#### XI. Wykrywanie sekwencji genu kodującego białko ppUL83 (pp65) wirusa cytomegalii, met. real-time PCR

#### 1. MATERIAŁ DO BADAŃ: Krew żylna pobrana na EDTA, osocze EDTA, płyn z BAL, płyn m-r, mocz,

#### 2. POBRANIE MATERIAŁU:

##### KREW ŻYLNA pobrana na EDTA

- pobierać jak w **pkt. X.2.**

##### OSOCZE EDTA

- Krew żylną pobrać na EDTA jak w **pkt. X.2.**
- Materiał wirować w temperaturze pokojowej, 10 minut, 2500 obrotów/minutę (rpm)
- Osocze rozporcjować do 2 jałowych, jednoznacznie opisanych próbek typu eppendorf, po 1,5 ml, minimum 250 µl

#### PŁYN z BAL

- Przed pobraniem materiału lekarz prowadzący odpowiednio przygotowuje i informuje pacjenta o badaniu.
- Objętość płynu BAL: optymalnie 10-20 ml.
- Materiał pobrać do sterylnej, polipropylenowej, jednoznacznie opisanej probówki z zakrętką.

#### PŁYN MÓZGOWO-RDZENIOWY

- Przed pobraniem materiału lekarz prowadzący odpowiednio przygotowuje i informuje pacjenta o badaniu.
- Objętość materiału: 0,5 - 2 ml.
- Materiał pobrany jałowo, do sterylnej jednoznacznie opisanej probówki z zakrętką

#### MOCZ

- Materiał do badań wirusologicznych stanowi **mocz z pierwszego strumienia**; do momentu pobrania próbki pacjent nie powinien oddawać moczu przez co najmniej 2 godziny.
- Mocz należy pobrać po uprzedniej, dokładnej porannej toalecie - umycie mydłem okolic narządów płciowych z dokładnym wytarciem ręcznikiem jednorazowym.
- Objętość materiału: 10 - 20 ml,
- Mocz pobrany do sterylnej, jednoznacznie opisanego plastikowego pojemnika z zakrętką

#### 4. PRZECHOWYWANIE I TRANSPORT MATERIAŁU:

- Pobrany i zabezpieczony materiał biologiczny, należy jak najszybciej po pobraniu transportować w pozycji pionowej, w zakresie temperatur: od +2 °C do +4°C (wkład chłodzący),
- maksymalny czas od pobrania do dostarczenia do ZGiK- **4 godziny**
- Jeśli konieczne jest wydłużenie czasu przechowywania materiału:
  - krew pełna pobrana na EDTA – nie podlega przechowywaniu, należy przygotować osocze j.w.
  - płyn z BAL, płyn mózgowo-rdzeniowy, mocz: materiał dokładnie wymieszać, a następnie rozporcjować materiał do 2 jałowych, jednoznacznie opisanych probówek typu eppendorf, po 1,5 ml, minimum po 250 µl.
  - materiały zamrozić w temperaturze < -20°C i transportować do ZGiK w warunkach uniemożliwiających rozmrożenie