

Wymagania dotyczące materiałów klinicznych przeznaczonych do badań diagnostycznych w LEP – I-02/PO-21/LEP/S, ed. 10:2013.11.15

I. Cel instrukcji

Celem instrukcji jest określenie wymagań dotyczących próbek klinicznych dostarczonych przez klienta do Punktu Przyjęć Materiałów (PPM) przeznaczonych do badań diagnostycznych w Laboratorium Zakładu Parazytologii Lekarskiej (LEP) w NIZP-PZH.

II. Badanie w kierunku :

1. Toksoplazmoza (pasożyt: *Toxoplasma gondii*)

Typ badania:

1.1. Odczyn immunoenzymatyczny ELISA na obecność swoistych przeciwciał klasy A

Materiał do badań: 1 ml surowicy krwi, a w przypadku pobrania materiału w NIZP-PZH – 5 ml krwi pobranej na skrzep.

1.2. Odczyn immunoenzymatyczny ELISA określający miano toksoplazmowych IgG oraz awidność IgG

Materiał do badań: 1 ml surowicy krwi, a w przypadku pobrania materiału w NIZP-PZH – 5 ml krwi pobranej na skrzep.

1.3. Metoda Western-blot: surowica krwi matki i noworodka

Materiał do badań: próbka krwi pępowinowej pobranej przy porodzie (2 ml) lub surowica noworodka do 1 miesiąca (0,5ml) i surowica krwi matki (1 ml).

1.4. Metoda PCR do wykrywania DNA *Toxoplasma gondii*

Materiał do badań: płyn mózgowo-rdzeniowy (1 ml);
płyn z gałki ocznej (około 100 µl);
płyn owodniowy (5 ml).

1.5. Metoda Real-Time PCR do wykrywania DNA *Toxoplasma gondii*

Materiał do badań: płyn mózgowo-rdzeniowy (1 ml);
płyn z gałki ocznej (około 100 µl);
płyn owodniowy (co najmniej 5 ml).

1.6. Badanie WESTERN-blot *Toxoplasma gondii* - IgG oraz awidność

Materiał do badań: 1 ml surowicy krwi, a w przypadku pobrania materiału w NIZP-PZH – 5 ml krwi pobranej na skrzep.

2. Pneumocystoza (grzyb: *Pneumocystis jirovecii*, dawna nazwa *P. carinii*)

Typ badania:

2.1. Metoda PCR do wykrywania DNA *Pneumocystis*

Materiał do badań: popłuczyny pęcherzykowo-oskrzelowe (10–15 ml);
plwocina (2 ml);
popłuczyny jamy ustnej i gardła (10–12 ml);

2.2. Metoda nested PCR, z wykorzystaniem dwóch par starterów do wykrywania DNA *Pneumocystis*

Materiał do badań: popłuczyny pęcherzykowo-oskrzelowe (10–15 ml);
plwocina (2 ml);
popłuczyny jamy ustnej i gardła (10–12 ml);

2.3. Badanie mikroskopowe na obecność *Pneumocystis jirovecii*

Materiał do badań: popłuczyny pęcherzykowo-oskrzelowe (10–15 ml);
plwocina (2 ml);

3. Toksokaroza (pasożyty: *Toxocara canis*, *Toxocara cati*)

Typ badania:

3.1. Odczyn immunoenzymatyczny ELISA określający miano swoistych IgG w zarażeniu *Toxocara*

Materiał do badań: 1 ml surowicy krwi, a w przypadku pobrań materiału w NIZP-PZH – 5 ml krwi pobranej na skrzep.

3.2. Badanie określające miano oraz awidność swoistych IgG w zarażeniu *Toxocara* - ELISA (określenie czasu trwania zarażenia) – badanie awidności wykonywane jest w przypadku obecności przeciwciał IgG

Materiał do badań: 1 ml surowicy krwi, a w przypadku pobrań materiału w NIZP-PZH – 5 ml krwi pobranej na skrzep

3.3. Badanie określające awidność swoistych IgG w zarażeniu *Toxocara* (określenie czasu trwania zarażenia)

Materiał do badań: 1 ml surowicy krwi, a w przypadku pobrań materiału w NIZP-PZH – 5 ml krwi pobranej na skrzep

3.4. Badanie określające miano swoistych IgA w zarażeniu *Toxocara* (ELISA)

Materiał do badań: 1 ml surowicy krwi, a w przypadku pobrań materiału w NIZP-PZH – 5 ml krwi pobranej na skrzep

4. Bąblowica (pasożyty: *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis*)

Typ badania:

4.1. Odczyn immunoenzymatyczny ELISA IgG w kierunku bąblowicy

Materiał do badań: 1 ml surowicy krwi, a w przypadku pobrań materiału w NIZP-PZH – 5 ml krwi pobranej na skrzep.

4.2. Metoda Western- blot – potwierdzająca rozpoznanie bąblowicy

Materiał do badań: 1 ml surowicy krwi, a w przypadku pobrań materiału w NIZP-PZH – 5 ml krwi pobranej na skrzep.

4.3. Odczyn immunoenzymatyczny ELISA (Em²⁺) potwierdzający zarażenie *Echinococcus multilocularis*

Materiał do badań: 1 ml surowicy krwi, a w przypadku pobrań materiału w NIZP-PZH – 5 ml krwi pobranej na skrzep.

4.4. Badanie mikroskopowe płynu z torbieli i tkanek na obecność Echinococcus sp.

Materiał do badań: płyn z torbieli lub/i torbiel lub jej fragmenty

5. Wągrzyca (pasożyt: Taenia solium)

Typ badania:

5.1. Odczyn immunoenzymatyczny ELISA na obecność przeciwciał IgG w kierunku zarażenia Taenia solium ; inwazja tkankowa (wągrzyca) i inwazja jelitowa

Materiał do badań: 1 ml surowicy krwi, a w przypadku pobrań materiału w NIZP-PZH – 5 ml krwi pobranej na skrzep.

5.2. Metoda Western- blot – potwierdzająca rozpoznanie wągrzyca Taenia solium

Materiał do badań: 1 ml surowicy krwi, a w przypadku pobrań materiału w NIZP-PZH – 5 ml krwi pobranej na skrzep; płyn mózgowo-rdzeniowy około 1 ml.

6. Włośnica (pasożyty: Trichinella spp.):

Typ badania:

6.1. Odczyn immunoenzymatyczny ELISA na obecność swoistych przeciwciał klasy G

Materiał do badań: 1 ml surowicy krwi, a w przypadku pobrań materiału w NIZP-PZH – 5 ml krwi pobranej na skrzep.

6.2. Badanie izolatów nicieni Trichinella. Określenie gatunku metodą Real-time PCR

Materiał do badań: wyizolowane włośnie lub tkanka z pasożytem.

7. Malaria (pasożyty: Plasmodium spp.)

Typ badania:

7.1. Badanie mikroskopowe krwi w kierunku malarii; gruba kropla + cienki rozmaz

Materiał do badań: szkiełka podstawowe z wysuszonym rozmazem krwi, w tym: co najmniej 2 cienkie rozmazy i 2 grube krople;
krew żylna pobrana na EDTA (3 ml);
krew obwodowa (z palca) pobrana na EDTA (200-300 µl)

7.2. Malaria – szybki test kasetowy

Materiał do badań: krew obwodowa (z palca) pobrana na EDTA (200-300 µl)

Badanie mikroskopowe w kierunku malarii może być wykonane po uprzednim uzgodnieniu z dr Ruslanem Salamatinem i/lub dr Danutą Szelenbaum-Cielecką - pracownikami z Zakładu Parazytologii Lekarskiej w dniach poniedziałek – piątek w godz. 14–16.

8. Babeszjoza (pasożyty: Babesia spp.)

Typ badania:

8.1. Badanie mikroskopowe krwi w kierunku babeszjozy; gruba kropla + cienki rozmaz

Materiał do badań: szkiełka podstawowe z wysuszonym rozmazem krwi, w tym: co najmniej 2 cienkie rozmazy i 2 grube krople;
krew żylna pobrana na EDTA (3 ml);

8.2. Molekularne badania krwi w kierunku babeszjozy

Materiał do badań: 6 ml krwi na pobranej na skrzep (bez wykrzepiacza)

9. Filariozy (pasożyty: *Dirofilaria* spp., *Acanthocheilonema reconditum*, *Brugia malayi*)

Typ badania:

9.1. Badanie mikroskopowe izolowanych lub usuniętych chirurgicznie wraz z tkanką nicieni *Dirofilaria*

Materiał do badań: pasożyt;
tkanka z pasożytem

9.2. Badanie izolatów nicieni *Dirofilaria*. Określenie gatunku metodą Real-time PCR

Materiał do badań: pasożyt;
tkanka z pasożytem;
tkanka zatopiona w bloczku parafinowym

9.3. Badanie mikroskopowe krwi na obecność larw (mikrofilarii)

Materiał do badań: 2 ml krwi żyłnej pobranej na EDTA

10. Pasożyty jelitowe

Typ badania:

10.1. Badania mikroskopowe kału na obecność pasożytów jelitowych

m. in. na giardie (dawna nazwa - lamblie), ameby, tasiemce, nicienie, przywry (1 próbka),

Materiał do badań: kał (grudka wielkości orzecha laskowego). Kał należy pobrać do tzw. kałówki - dostępna w aptece). Na opakowaniu należy podać: imię, nazwisko, datę i godzinę defekacji. Materiał dostarczony w innym opakowaniu nie będzie przyjmowany.

Uwaga! Aby wykluczyć obecność pasożytów wskazane jest wykonanie 3 kolejnych badań próbek kału pobranego w odstępach 1–3 dniowych w okresie do 14 dni.

10.2. Badania mikroskopowe kału na obecność pasożytów jelitowych

m. in. na giardie (dawna nazwa-lamblie), ameby, tasiemce, nicienie, przywry (3 próbki),

Materiał do badań: kał (grudka wielkości orzecha laskowego). Kał należy pobrać do tzw. kałówki – dostępna w aptece. Próbki kału należy pobrać w odstępach 1-3 dniowych w okresie do 14 dni. Próbki można przynosić do badania na bieżąco lub przechowywać w chłodnym miejscu (np. lodówce) i dostarczyć wszystkie 3 razem. Kał biegunkowy powinien być dostarczony do badania jak najszybciej.

Na opakowaniu należy podać: imię, nazwisko, datę i godzinę defekacji.
Materiał dostarczony w innym opakowaniu nie będzie przyjmowany.

10.3. Badanie mikroskopowe wymazów okołodbytnicznych na obecność owsików (*Enterobius vermicularis*). Metoda przylepca celofanowego (1próbka).

Materiał do badań: Szkiełko mikroskopowe z przylepcem (do pobrania w punkcie PPM).
Postępować zgodnie z instrukcją I-03/PO-21/LEP/S.

Uwaga! Aby wykluczyć obecność pasożytów wskazane jest wykonanie 3 kolejnych badań próbek pobranych w odstępach 1–3 dniowych.

10.4. Badanie mikroskopowe wymazów okołodbytnicznych na obecność owsików (*Enterobius vermicularis*). Metoda przylepca celofanowego (3próbki).

Materiał do badań: Szkiełko mikroskopowe z przylepcem (do pobrania w punkcie PPM).
Postępować zgodnie z instrukcją I-03/PO-21/LEP/S.

10.5. *Giardia intestinalis* (=G. lamblia) i *Cryptosporidium parvum*, *Entamoeba histolytica sensu lato*– szybki test (kasetowy/paskowy) do wykrywania koproantygenów

Materiał do badań: kał (grudka wielkości orzecha laskowego) – **nieutrwalony**. Kał należy pobrać do tzw. kałówki - dostępna w aptece. Na opakowaniu należy podać: imię, nazwisko, datę i godzinę defekacji. Materiał dostarczony w innym opakowaniu nie będzie przyjmowany.

11. Badania parazytologiczne referencyjne

Typ badania:

11.1. Referencyjne badania mikroskopowe świeżych próbek materiału pobranego do analizy parazytologicznej:

Materiał do badań: materiały pooperacyjne,
wydzieliny,
kał,
mocz,
krew,
zeskrobiny skóry,
rzęsy,
wyzolowane okazy pasożytów.

Badania w kierunku:

- leishmania (*Leishmania* spp.) – badania treści owrzodzenia skóry;
- nużeńce (*Demodex* spp.) – badanie rzęs;
- przywra krwi (*Schistosoma haematobium*) – badanie moczu; końcowa frakcja moczu
lub mocz oddany po wysiłku;
- świdorce (*Trypanosoma* spp.) – badanie krwi; 3ml krwi pobranej na EDTA;
- świerzbowiec (*Sarcoptes scabiei*) – badania zeskrobiny skóry;
- węgorek (*Strongyloides stercoralis*) i tęgoryjce (*Ancylostoma duodenale* i *Necator americanus*) – hodowla larw; kał (grudka wielkości orzecha laskowego);

- oznaczanie gatunku wyizolowanych pasożytów: członów tasiemców, okazów nicieni, larw much i innych obiektów.

* Kał należy pobrać do tzw. kałówki (dostępna w aptece). Mocz należy dostarczyć w pojemniku na mocz (dostępny w aptece) Na opakowaniu należy podać: imię, nazwisko, datę i godzinę pobrania materiału. Materiał dostarczony w innym opakowaniu nie będzie przyjmowany.

Badania referencyjne w kierunku wymienionych powyżej zarażeń oraz innych niewyszczególnionych mogą być wykonane wyłącznie po uprzedniej konsultacji z dr Danutą Szelenbaum-Cielecką i/lub dr Ruslanem Salamatinem – pracownikami Zakładu Parazytologii Lekarskiej w dniach poniedziałek–piątek, godz. 14–16.

III. Warunki przechowywania materiału:

1. Materiał, który przychodzi w formie schłodzonej powinien być umieszczony w lodówce (temp. 4–10°C).
2. Materiał, który jest transportowany w temperaturze pokojowej, jeżeli nie zostanie przekazany od razu do laboratorium powinien być umieszczony w lodówce (temp. 4–10°C).
3. Materiał pobrany w ambulatorium NIZP-PZH może być przechowywany w temperaturze pokojowej do chwili przekazania do LEP.
4. Materiału przeznaczonego do badań serologicznych i mikroskopowych w LEP **nie wolno zamrażać**.
5. Materiał powinien być starannie zabezpieczony, aby nie uległ zniszczeniu podczas transportu do PPM.

IV. Procedura przyjęcia próbki – wymagania w LEP

1. Na skierowaniu musi być sprecyzowany **kierunek badań**.
2. W przypadku nadesłania materiału bez określonego kierunku badań należy próbkę umieścić w lodówce (PPM), a następnie skontaktować się ze zleceniodawcą.
3. Próbki powinny być wyraźnie opisane wraz z **dokładnie wypełnionym zleceniem** na badanie.

V. Wyniki

1. Czas oczekiwania na wynik badania serologicznego wynosi **do 10 dni roboczych**; badania wykonywane są co najmniej 1 raz w tygodniu.
2. Czas oczekiwania na wyniki badań molekularnych wynosi **do 5 dni roboczych**.
3. Czas oczekiwania na wyniki badań mikroskopowych wynosi **do 5 dni roboczych** (w przypadku hodowli **do 10 dni roboczych**)
4. Wyniki szybkich testów diagnostycznymi są dostępne **następnego dnia** od dostarczenia próbki do LEP.
4. Sprawozdanie z badań pacjenta prywatnego jest przekazane do PPM.

VI. Materiał do badań dostarczany jest:

1. Bezpośrednio przez osoby prywatne – badania opłacane w kasie NIZP–PZH.
2. Poczta z dowodem opłaty dokonanej na konto NIZP–PZH.
3. Przez firmy pośredniczące.
4. Przez wysłanników szpitali.