<u>Do sekwencjonowania koronawirusa przyjmowane są próbki pobrane od osób, u których potwierdzono zakażenie wirusem SARS-CoV-2.</u>

Dodatnie próbki potwierdzone szybkim testem antygenowym

- W przypadku potwierdzenia zakażenia koronawirusem w szybkim teście antygenowym, należy wykonać ponowny wymaz z nosogardła lub z nosa i gardła:

<u>Wymaz z nosogardła:</u>

- należy pobrać <u>używając zestawów transportowych, przewidzianych specjalnie do pobierania materiału klinicznego w kierunku **zakażeń wirusowych**</u> (wymazówka plus podłoże w próbówce). Jałowa wymazówka powinna być wykonana w całości ze sztucznego tworzywa, tzn. patyczek plastikowy oraz wacik wykonany z materiału innego niż wata (dakron, czysta wiskoza, poliester lub sztuczny jedwab), ponieważ stosowanie innych wymazówek powoduje inhibicję reakcji PCR. **Podłoże transportowe do pobranych wymazów zapewnia Pracownia Biologii Molekularnej i Serologii WSSE w Łodzi, <u>nie należy stosować innych podłóż np. bakteriologicznych</u>**. Jałową wymazówką należy pobrać głęboki wymaz z nosogardła i umieścić w probówce z podłożem.

<u>Wymaz z gardła:</u>

- 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 odłamać tuż przy zakrętce
- patyczek wymazowy z pobranym materiałem umieścić w probówce z podłożem transportowym (bez dotykania wacikiem jej ścianek).

<u>Wymaz z nosa:</u>

- 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; wymaz powinien być pobrany energicznie, aby mieć pewność, że zawiera on zarówno komórki, jak i śluz z wnętrza nozdrza
- koniec patyczka wymazowego odłamać tuż przy zakrętce, patyczek wymazowy z pobranym materiałem umieścić następnie w probówce, w której jest już wymaz z gardła
- według tej samej procedury, za pomocą nowego sterylnego patyczka wymazowego, należy pobrać wymaz z lewego nozdrza
- probówkę zamknąć i podpisać imieniem i nazwiskiem pacjenta oraz datą i godziną pobrania wymazu
- próbkę do 24 godzin od momentu pobrania przechowywać i transportować w pozycji pionowej w temperaturze od +2°C do +8°C
- powyżej 24 godzin przechowywać w temperaturze –70°C lub niższej i transportować w stanie zamrożonym.
- podłoże transportowe do pobranych wymazów zapewnia **Pracownia Biologii Molekularnej i Serologii WSSE w Łodzi, <u>nie należy stosować innych podłóż np. bakteriologicznych</u>**
- należy używać jedynie sterylnych wymazówek, zawierających waciki wykonane z tworzywa sztucznego (np. sztuczny jedwab) oraz patyczki plastikowe. Wymazówki z wacikiem bawełnianym i drewnianym patyczkiem mogą zawierać substancje inaktywujące niektóre wirusy i hamujące reakcję PCR.

- Próbówkę należy szczelnie zamknąć (w razie potrzeby uciąć patyczek wymazówki), jednoznacznie opisać (data pobrania, imię i nazwisko chorego) i przechowywać w temperaturze chłodni (5°C ± 3°C),
- Próbkę należy przesłać do laboratorium jak najszybciej; próbka powinna być umieszczona na lodzie, w celu zapewnienia temperatury chłodni (5°C ± 3°C). Jeżeli próbka będzie przechowywana/transportowana dłużej niż 24 godziny, należy ją zamrozić i dostarczyć do laboratorium w warunkach uniemożliwiających rozmrożenie (na suchym lodzie).
- Próbki, których wynik dodatni nie będzie umieszczony w systemie EWP, automatycznie zostaną odrzucone i nie zostaną poddane sekwencjonowaniu,
- Próbki powinny być transportowane do laboratorium WSSE w Łodzi zgodnie z wytycznymi zawartymi w załączniku nr 6 (**Zalecenia dotyczące pakowania próbek materiału klinicznego do transportu**), powinny również zostać wyraźnie opisane imieniem i nazwiskiem pacjenta i ID zlecenia EWP oraz dostarczone wraz z wypełnionym zleceniem zawartym w załączniku nr 8 (**Zlecenie dostarczenia próbek do sekwencjonowania SARS CoV-2 do laboratorium w WSSE w Łodzi**),
- Jeżeli próbka będzie przechowywana/transportowana dłużej niż 24 godziny, należy zamrozić ją w temperaturze – 20°C lub niższej i dostarczyć do laboratorium w warunkach uniemożliwiających rozmrożenie (transport na suchym lodzie),
- Dostarczony materiał zostanie poddany badaniu Real Time RT-PCR. Jeśli uzyskany wynik dodatni nie będzie przekraczał Ct 30, próbka zostanie zakwalifikowana do sekwencjonowania. Zapewni to odpowiednią ilość materiału genetycznego niezbędnego do przeprowadzenia sekwencjonowania i określenia wariantu wirusa SARS-CoV-2.

Dodatnie próbki potwierdzone badaniem Real Time RT-PCR

- W przypadku potwierdzenia zakażenia koronawirusem w badaniu Real Time RT-PCR, którego wynik dodatni nie przekracza Ct 30, należy zabezpieczyć materiał, tj. oryginalną próbkę w objętości nie mniejszej niż 500 µl lub uzyskany z niej izolat w objętości nie mniejszej niż 20 µl,
- Próbki, których wynik dodatni nie będzie umieszczony w systemie EWP, automatycznie zostaną odrzucone i nie zostaną poddane sekwencjonowaniu,
- Próbki powinny być transportowane do laboratorium WSSE w Łodzi zgodnie z wytycznymi zawartymi w załączniku nr 6 (**Zalecenia dotyczące pakowania próbek materiału klinicznego do transportu**), powinny również zostać wyraźnie opisane imieniem i nazwiskiem pacjenta i ID zlecenia EWP oraz dostarczone wraz z wypełnionym zleceniem zawartym w załączniku nr 8 (**Zlecenie dostarczenia próbek do sekwencjonowania SARS CoV-2 do laboratorium w WSSE w Łodzi**)
- Jeżeli próbka będzie przechowywana/transportowana dłużej niż 24 godziny, należy ją zamrozić w temperaturze – 20°C lub niższej i dostarczyć do laboratorium w warunkach uniemożliwiających rozmrożenie (transport na suchym lodzie).