

Wytyczne do pobierania materiału klinicznego w kierunku zakażenia ospą małą (Monkeypox virus)

1. **Podejrzanie zakażenia Monkeypox virus (MPXV) powinno być postawione na podstawie zarówno klinicznych jak i epidemiologicznych przesłanek.** Ze względu na możliwość wystąpienia podobnych objawów (wysypka) w przebiegu wielu zakażeń, w przypadku braku informacji o ewentualnym narażeniu na zakażenie Monkeypoxvirus, wskazane jest wdrożenie co najmniej równoległej diagnostyki różnicującej w kierunku: np. VZV, HSV, enterowirusów, odry i in.
2. Monkeypox virus zaliczany jest do 3 grupy zagrożenia¹ co oznacza, że:
 - a. Badania diagnostyczne (a przynajmniej etap inaktywacji próbki) należy wyłącznie prowadzić w warunkach zapewniających co najmniej 3 stopień hermetyczności (Laboratorium BSL3) z zapewnieniem odpowiednich środków ochrony osobistej i środków ochrony.
 - b. Podstawową metodą diagnostyczną jest poszukiwanie swoistych sekwencji w genomie wirusa np. PCR, PCR+sekwencjonowanie itp.
 - c. **W celu weryfikacji rozpoznania lub diagnostyki ukierunkowanej na zakażenie Monkeypox virus, odpowiednio zapakowane próbki należy przesać do Zakładu Wirusologii NIZP PZH-PIB** (Warszawa, ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa, transport na koszt zleceniodawcy). Zlecenie badania oraz dane wymienione w pkt.8 powinny znajdować się w osobnej kopercie dołączonej do opakowania zewnętrznego. Konieczny wcześniejszy kontakt z Sekretariatem: **nr tel. 22 54 21 230, w celu uzgodnienia szczegółów.** (Godziny pracy 8:00-16:00, od poniedziałku do piątku)
3. W celu ograniczenia ryzyka zakażenia pracowników szpitala lub laboratorium, należy traktować każdy pobrany materiał jako wysoce zakaźny.
4. **Zalecany materiał do badania diagnostycznego:**
 - a. materiał ze zmian skórnych, w tym wymazy z powierzchni zmiany i/lub wysięku, łuski z więcej niż jednej zmiany lub strupy ze zmian. Materiał taki najlepiej umieścić w podłożu transportowym wirusowym tzw. VTM.

Dopuszcza się umieszczanie fragmentów więcej zmian skórnych **tego samego typu** w 1 próbówce z VTM. Nie należy łączyć w jednej próbówce zmian różnego typu czyli zmian chorobowych, strupów i płynów pęcherzykowych.

Próbki takie należy trzymać w ciemności i w odpowiedniej temperaturze (jak najszybciej zamrozić, a jeśli to niemożliwe to w warunkach 2-8°C)
5. Uzupełniający materiał kliniczny:
 - a. wymaz z gardła, mocz, nasienie męskie, wymaz z odbytu/z dróg płciowych, krew pobrana na EDTA

¹ Rozporządzenie Ministra Zdrowia (Dz. Ust. 2020, poz. 2234)

- b. Zaleca się także pobranie surowicy do ewentualnych badań serologicznych/potwierdzających
 - c. W tabeli 1 zebrano informacje nt. próbek materiału klinicznego pobieranych do badania w kierunku Monkeypox virus
 5. Próbkę po pobraniu należy zamrozić jak najszybciej (w minus 20°C lub w niższej temperaturze) i tak mogą być przechowane/transportowane do max. 7 dni. Jeśli przechowywanie/transport dłużej niż 7 dni – konieczne mrożenie w temperaturze minus 70°C.
 6. Transport w odpowiednim opakowaniu i warunkach
 - a. Temperatura poniżej 0°C (najlepiej z suchym lodem)
 - b. Opakowanie składające się z 3 warstw:
 - i. opakowanie wewnętrzne: jałowe, szczelne, nietłukące, w którym znajduje się próbka
 - ii. opakowanie wtórne: sztywne, szczelne, zawierające materiał chłonny
 - iii. opakowanie zewnętrzne: sztywne, utrzymujące zimno, odpowiednio oznakowane
 - iv. wszystkie części opakowania po zamknięciu muszą zostać zdezynfekowane i dopiero wtedy pakowane w kolejną warstwę opakowania
 - v. dokumenty związane z próbką muszą znajdować się na części zewnętrznej – odpowiednio zabezpieczone
 - c. Transport lotniczy – zgodnie z UN2814, klasa 6.2.
 7. Wszystkie pozostałości należy traktować jako potencjalnie zakaźne i poddawać je dezynfekcji/sterylizacji zgodnie z procedurami danego laboratorium
 8. Niezbędne dane pacjenta to:
 - a. Imię i nazwisko
 - b. PESEL
 - c. Data urodzenia
 - d. Narodowość
 - e. Miejsce zamieszkania
 - f. Data pobrania próbki
 - g. Data wystąpienia pierwszych objawów
 - h. Data wystąpienia wysypki
 - i. Czy istnieje powiązanie epidemiologiczne: tak/nie
 - j. Czy w okresie poprzedzających 3 tygodni pacjent wyjeżdżał poza granice Polski?
 - i. Jeśli tak to gdzie?
 - k. Czy wykonano inne badania diagnostyczne w kierunku innych zakażeń wysypkowych: tak/nie
 - i. jeśli tak to jakie:
 - l. czy pacjent był szczepiony przeciw ospie prawdziwej?

Tabela 1. Zestawienie możliwych do pobrania do badania diagnostycznego próbek materiału klinicznego wraz z podstawowymi danymi nt. pobrania oraz przechowywania/transportu.

Typ materiału	Sposób pobrania	Przechowywanie/Transport
Wymaz ze zmian skórnych (wysiłek, powierzchnia zmiany i strupy)	Wymaz na wirusologiczne podłoże transportowe (VTM)	≤5 dni w temperaturze chłodni (2-8 °C) ≥5 dni w zamrożeniu (≤-20°C, TRANSPORT w warunkach uniemożliwiających rozmrożenie – najlepiej suchy lód)
Krew pełna	Sterylnie probówki z antykoagulantem EDTA	<1h w temperaturze chłodni (2-8 °C) Nie mrozić Transport łącznie z przechowywaniem nie powinien przekroczyć 48 godz.
Surowica	Sterylnie probówki z żelem separacyjnym lub pobrane „na skrzep”	≤24h w temperaturze chłodni (2-8 °C) ≥24h w zamrożeniu (≤-20°C, TRANSPORT w warunkach uniemożliwiających rozmrożenie – najlepiej suchy lód)
Mocz	Sterylny pojemnik na mocz	≤24h w temperaturze chłodni (2-8 °C) ≥24h w zamrożeniu (≤-20°C, TRANSPORT w warunkach uniemożliwiających rozmrożenie – najlepiej suchy lód)
Wymaz z jamy ustnej i gardła	Wymaz na wirusologiczne podłoże transportowe (VTM)	≤5 dni w temperaturze chłodni (2-8 °C) ≥5 dni w zamrożeniu (≤-20°C, TRANSPORT w warunkach uniemożliwiających rozmrożenie – najlepiej suchy lód)
Wymazy z odbytu i/lub narządów płciowych	Wymaz na wirusologiczne podłoże transportowe (VTM)	≤5 dni w temperaturze chłodni (2-8 °C) ≥5 dni w zamrożeniu (≤-20°C, TRANSPORT w warunkach uniemożliwiających rozmrożenie – najlepiej suchy lód)
Nasienie	Sterylny pojemnik na nasienie	≤1h w temperaturze chłodni (2-8 °C) ≥1h w zamrożeniu (≤-20°C, TRANSPORT w warunkach uniemożliwiających rozmrożenie – najlepiej suchy lód)
Osocze	Sterylnie probówki z antykoagulantem EDTA	<i>Krew pełną pobraną na antykoagulant należy odwirować</i> ≤24h w temperaturze chłodni (2-8 °C) ≥24h w zamrożeniu (≤-20°C, TRANSPORT w warunkach uniemożliwiających rozmrożenie – najlepiej suchy lód)