



Folkhälsomyndigheten

## Provtagningsanvisningar

### *Leishmania*

#### **1. Allmänt om diagnostik**

Diagnostik av leishmaniainfektion kan utföras med antikroppspåvisning, mikroskopi, odling och molekylära metoder. En kombination av dessa metoder används för en optimal diagnostisk sensitivitet. Analyserna utförs på enheten för parasitologi, avdelning för mikrobiologi, Folkhälsomyndigheten. Oftast utförs mikroskopi, odling och PCR som ett analyspaket.

#### Vid misstanke om kutan eller mukokutan leishmaniasis:

Vi rekommenderar att ni skickar två utstryk för mikroskopi samt tillräckligt med provmaterial i RPMI-transportmedium\* för både odling och molekylära metoder. Antikroppspåvisning är av begränsat värde vid en kutan eller mukokutan infektion eftersom de flesta patienter inte utvecklar mätbara antikroppar.

#### Vid misstanke om visceral leishmaniasis:

Antikroppspåvisning rekommenderas i samband med mikroskopi, odling och molekylära metoder.

Antikroppar kan vara ej påvisbara i immunsupprimerade patienter. Korsreaktioner med *Trypanosoma cruzi*-antikroppar kan förekomma.

#### Vid misstanke om recidivinfektion eller behandlingseffekt:

Mikroskopi och odling rekommenderas för påvisning av levande parasiter.

\*För odlingsanalysen kan RPMI-transportmedium<sup>1</sup> beställas från enheten (transportmedium är lämpligt för både odling och molekylära metoder). Mediet är hållbart en vecka i kylskåp eller kan förvaras minst 6 månader i frys.

Kontakta gärna kundtjänst för mikrobiologi om ni har specifika frågeställningar om leishmaniadiagnostik på telefon 010 205 2444.

Det är viktigt att ange följande uppgifter på remissen:

- \* Provtagningsdatum
- \* Provmaterial
- \* **Utlandsvistelse/epidemiologisk bakgrund**
- \* Immunsuppression, orsakad av?
- \* Ungefärlig tidpunkt för insjuknande
- \* Eventuell behandling (antibiotika)
- \* Symtom, kliniska fynd och tidigare laboratorieresultat

## 2. Provmaterial

Prov på bomullspinne från en misstänkt leishmanialesion accepteras inte (otillräckligt provmaterial).

Vid misstanke om kutan eller mukokutan leishmaniasis:

- Prov från lesion (mikroskopi, odling och molekylära metoder)
- Aspirat från lymfkörtel (mikroskopi, odling och molekylära metoder)

Vid misstanke om visceral leishmaniasis:

- Serum (antikroppsbestämning)
- Benmärgsprov (mikroskopi, odling och molekylära metoder)
- Biopsi/aspirat från lever, mjälte, lymfkörtel eller annan vävnad (mikroskopi, odling och molekylära metoder)
- EDTA-blod, har en lägre sensitivitet jämfört med benmärg (mikroskopi, odling och molekylära metoder)

Vid misstanke om recidivinfektion:

- Prov från lesion/benmärg/biopsi/aspirat (mikroskopi och odling)

## 3. Provtagning

Provtagning från hudlesion:

Välj den lesion som är mest "aktiv". Tvätta först lesionen så kraftigt som det går med tvål och vatten för att få bort allt dött material, och för att exponera huden<sup>2</sup>. Desinfektera sedan med 70 % alkohol. Om lokalanestesi skall göras injiceras så liten mängd som möjligt djupt under lesionen. Höga koncentrationer av lokalanalgetika kan ha hämmande effekt på parasit-tillväxten i odling. Om RPMI-transportmedium inte finns kan provmaterialet läggas i ett rör med etanol (70 % eller 99 %). Då utförs endast PCR, odling utgår.

Välj ett av nedanstående alternativ:

- **Med skalpell**  
Med skalpell tas provmaterial sterilt från sårkanten samt från botten av såret<sup>3</sup>. Överför materialet till RPMI-transportmedium. Flera hudbitar kan läggas i samma rör. Detta moment måste ske så sterilt som möjligt för att undvika kontamination vid odling. Sist görs även ett eller två utstryk av det kvarvarande materialet på objektglas. Undvik ett alltför blodigt utstryk.
- **Hudstans**  
Hudstansbiopsi tas från sårkanten och överförs sterilt till RPMI-transportmedium. Detta moment måste ske så sterilt som möjligt. Sist görs utstryk från material som skrapats med skalpell från botten av såret samt från sårkanten, undvik ett alltför blodigt utstryk.
- **Finnålsbiopsi**  
Dra upp 0,1 mL steril 0,9 % NaCl i en spruta och spruta in vätskan parallellt med sårkanten från utsidan. Roterå nålen flera gånger, aspirera vätskan och spruta ner i RPMI-transportmedium. Arbeta så sterilt som möjligt. Gör även ett eller flera utstryk av materialet på objektglas om möjligt.

Provtagning av annat material:

- **Serum**

- Minst 2 mL serum i ett serum-rör utan tillsats.
- **Benmärg**  
Material från benmärg överförs sterilt direkt i RPMI-transportmedium alternativt i ett EDTA-blod rör. Blanda med RPMI omedelbart för att förhindra koagulering. Gör flera utstryk på objektglas med kvarvarande material i nålen.
- **Biopsi/aspirat från lever, mjälte, lymfkörtel eller annan vävnad**  
Material överförs sterilt direkt i RPMI-transportmedium. Sist görs flera utstryk på objektglas. Om RPMI- transportmedium inte finns kan provmaterialet läggas i ett rör fyllt med etanol (70 % eller 99 %). Då kan endast PCR utföras, odling utgår.
- **EDTA-blod**  
Minst 2 mL blod i EDTA-rör.

#### 4. Förvaring och transport av provmaterial:

- **Objektglas med utstryk**  
Låt torka och lägg därefter i transporthylsa. Förvaras i rumstemperatur.
- **Material i RPMI-transportmedium (steril provtagning)**  
Mycket viktigt att materialet inte torkar in, fyll röret med medium. Små vävnadsbitar bör om möjligt transporteras i upprätt position i fyllt rör så att de inte fastnar i provrörets skruvlock och torkar in. Provmaterialet förvaras i rumstemperatur i väntan på transport (vid behov, även över natt/helgen) och får inte frysas. Transporteras till Folkhälsomyndigheten i rumstemperatur.
- **Benmärg och EDTA-blod**  
Förvaras i rumstemperatur i avvaktan på transport.
- **Serum**  
Förvaras i rumstemperatur i avvaktan på transport eller i kylskåp över natt. Transporteras till Folkhälsomyndigheten i rumstemperatur.
- **Material i fysiologisk koksaltlösning eller i alkohol**  
Förvaras i kylskåp i avvaktan på transport. Transporteras till Folkhälsomyndigheten i rumstemperatur.

#### Referenser

1. RPMI komplett transportmedium med 10 % fetalt kalvserum, penicillin, streptomycin och L-glutamin beställs från enheten för parasitologi.
2. Navin et al. Am J Trop Med Hyg 1990; 42 (1), 36-42.
3. Ramirez et al. J.R.. 2000. J Clin Microbiol 2000;38:3768-73.

Enheten för Parasitologi  
Avdelningen för mikrobiologi  
171 82 Solna  
Tel 010 205 2444  
Version 9  
2018-02-26