دستور العمل مدیریت نمونه بیماران محتمل و قطعی آربوویروس ها و تبهای خونریزی دهنده ویروسی

1) الزامات نمونه گیری

1-1) قبل از انجام نمونه گیری از بیمار، مراکز و مسئولین مرتبط در آزمایشگاه طبق راهنمای کشوری بیماری آربوویروسی و یا تب های خونریزی دهنده مربوطه (مانند CCHF،دنگی ، جیگن گونیا، تب زرد و ...) در خصوص بیمار آگاهی داشته باشند.

1-2) فرد (افراد) نمونه گیر باید آموزش های لازم در زمینه شناخت بیماری، نحوه اجرای برنامه و اقدامات ایمنی و امنیت زیستی، نحوه استفاده از وسایل حفاظت فردی در حیطه کاری، نحوه آلودگی زدایی و مدیریت پسماند را فرا گرفته باشد. همچنین جانشین و یا جانشینان افراد مذکور نیز آموزش های لازم را دیده باشند.

1-3) همواره جهت انجام نمونه گیری در خصوص احتمال وجود بیماری های عفونی خطرناک، باید فرد دیگری به عنوان فرد کمک کننده حضور داشته باشد. بدیهی است که این فرد باید آموزش های لازم را فرا گرفته و از پوشش های حفاظت فردی مناسب استفاده نماید.

1-4) رعایت پوشش حفاظت فردی الزامی است. پوشش محافظت فردی استاندارد برای تب های خونریزی دهنده ویروسی از جمله CCHF (تصویر 1) عبارت است از: دو لایه دستکش (نیتریل یا لاتکس)،گان یکسره (Coverall) مقاوم در مقابل نفوذ مایعات، ماسک N95، محافظ صورت (Shield) یا عینک محافظ (Goggles)، کفش آزمایشگاهی با رویه بسته (در صورت لزوم باید از روکش کفش و چکمه پلاستیکی استفاده شود).

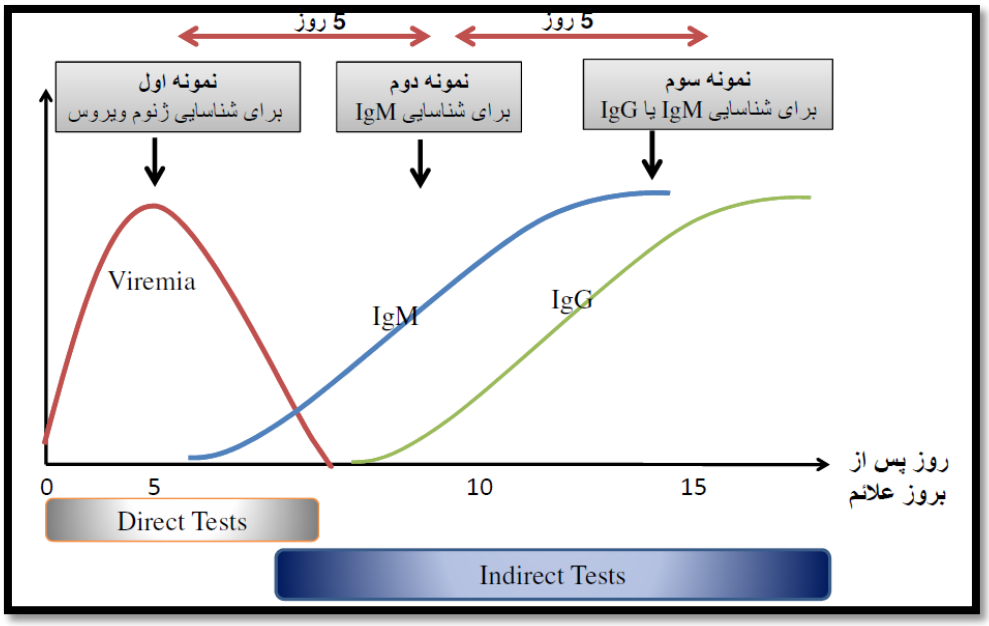
1-5) ترتیب پوشیدن و بیرون آوردن (Donning and Doffing) تجیزات حفاظت فردی از اهمیت بالایی برخوردار است که بایستی توسط مسئول کنترل عفونت در بیمارستان به مسئول نمونه گیر آموزش داده شده باشد.

1-6)از تهیه نمونه در لوله های شیشه ای، لوله های بدون درب، و لوله های حاوی ضد انعقاد هپارین جداً خودداری شود.

2-1) الگوی نمونه گیری

- نمونه گیری از هر بیمار حداقل در 2 نوبت و به شرح ذیل می باشد:
- نمونه اول (A): بلافاصله پس از تشخیص بالینی و قبل از شروع درمان ضد ویروسی (مانند ریباویرین).
- سعی شود نمونه اول در نزدیک ترین زمان ممکن از بروز علائم تا حداکثر 5 روز بعد از بروز علائم تهیه شود.
- نمونه دوم (B): 5 روز پس از نمونه اول
- در صورتیکه با دو نمونه اول و دوم تشخیص آزمایشگاهی موفقیت آمیز نبود، نمونه سوم (C) با فاصله 5 روز از نمونه دوم درخواست می گردد.

تصویر 1) تجهیزات حفاظتی استاندارد برای نمونه گیری نمونه های آربوویروس ها و تب های خونریزی دهنده ویروسی



تصویر 2) دینامیک معمول تبهای خونریزی دهنده ویروسی و الگوریتم تشخیص آزمایشگاهی.

1-3) مسئول نمونه گیری

1-3-1) مسئول نمونه گیری به عهده نمونه گیر آزمایشگاه و(در صورت عدم حضور نمونه گیر) با پرستار آموزش دیده در بخش می باشد.

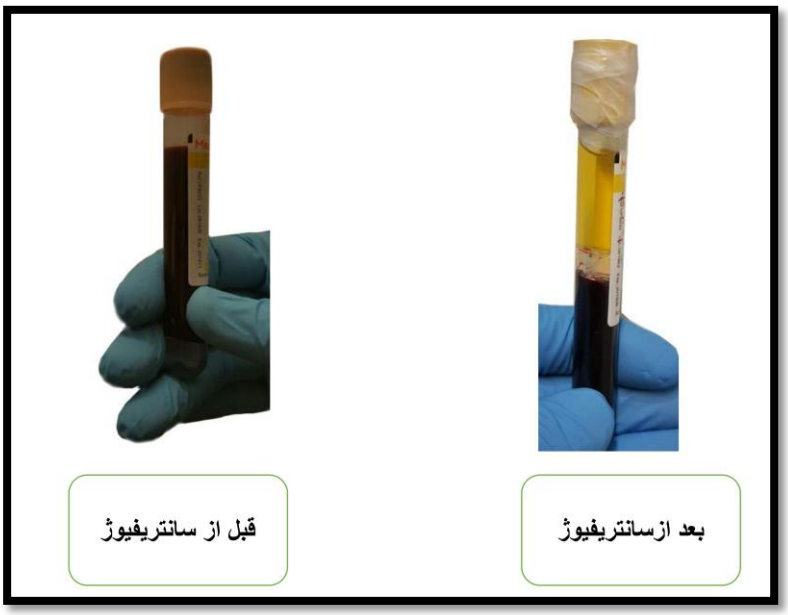
1-4) نوع نمونه

- نمونه مورد نیاز خون کامل بدون ماده ضد انعقاد می باشد. جهت انجام آزمون های تشخیصی از سرم استفاده می گردد.
- در موارد نمونه برداری از جسد، بیوپسی کبد برای تشخیص آزمایشگاهی توصیه می شود. باید به این نکته ضروری توجه داشت که انجام بیوپسی کبد از بیمار محتمل به تبهای خونریزی دهنده ویروسی نیازمند رعایت کامل نکات ایمنی زیستی مذکور می باشد.

1-5) نحوه نمونه گیری

1-5-1) قبل از اقدام به نمونه گیری از فراهم بودن ملزومات نمونه گیری شامل سیستم خونگیری خلاء (ونوجکت)، لوله حاوی ژل جدا کننده سرم (SST)[1]، محلول های گندزدای مناسب مانند اتانول 70 درصد و سفید کننده خانگی با رقت 1:10 ، ظروف ایمن safety box جهت دفع پسماند های تیز و برنده و ماژیک ضد آب جهت درج مشخصات بیمار بر روی لوله اطمینان حاصل شود.

1-5-2) با استفاده از سیستم خونگیری خلاء (ونوجکت)، 8 تا 10 میلی لیتر خون وریدی در لوله های حاوی ژل جدا کننده سرم(SST)[2] تهیه شود. مزیت این لوله ها این است که پس از جداسازی سرم توسط سانترفیوژ، ژل داخل لوله بین سلول های خونی و سرم قرار می گیرد و بنابراین نیازی به انتقال سرم به لوله های دیگر نمی باشد . بنابراین نمونه سرم در همان لوله ای که در زمان خونگیری مورد استفاده قرار گرفته است قابل ارسال می باشد (تصویر 3).



تصویر 3: لوله SST قبل از سانتریفوژ و بعد از آن

[1] Serum Separating Tube (SST)
[2] Serum Separating Tube (SST)

1-5-3) علیرغم رعایت احتیاطات لازم، ترجیحاً اطراف لوله حاوی نمونه با مواد گندزدای مناسب مانند اتانول 70 درصد گند زدایی گردد. بعد از گندزدایی جدار لوله، می توان بر روی آن برچسب خطر زیستی نصب نمود و یا بر روی لوله با ماژیک مقاوم به آب عبارت " خطر سرایت بیماری" درج گردد.

1-5-4) با استفاده از ماژیک ضد آب نام کامل بیمار، نوبت نمونه گیری و تاریخ نمونه گیری بر روی لوله درج شود.

1-5-5) محل اتصال در لوله حاوی نمونه و بدنه با پارافیلم پوشانده شود.

1-6) جداسازی سرم

1-6-1) بلافاصله پس از خونگیری لوله را حداقل 5 مرتبه به آرامی به صورت up &down حرکت بدهید تا ایجاد لخته تسریع شود.

1-6-2) لوله را در دمای اتاق به مدت 15 دقیقه قرار دهید تا لخته تشکیل شود.

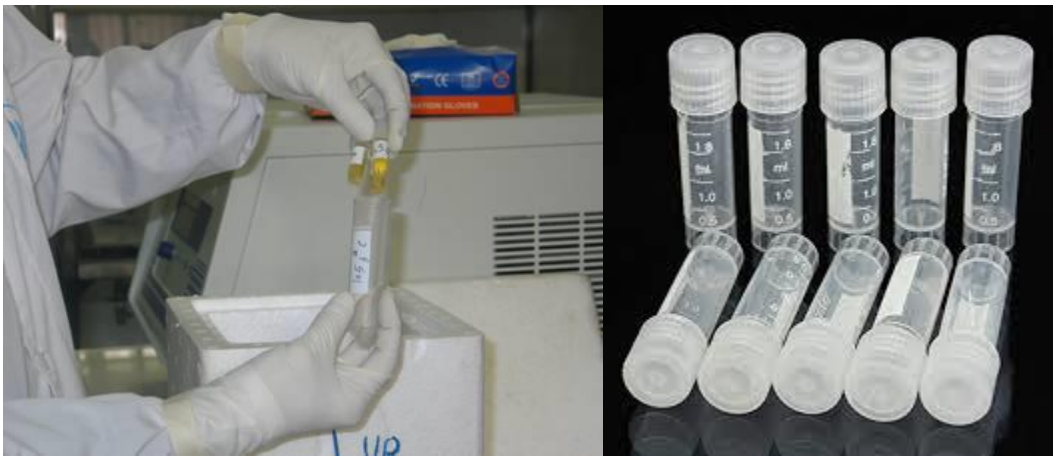
1-6-3) سانتریفوژ لوله (طبق پروتکل شرکت سازنده لوله) با رعایت این نکات انجام شود: از سانتریفوژهایی که باگت های آنها داری درپوش است و یا سانتریفوژ های دارای کاپ استفاده شود. پس از اتمام سانتریفوژ نیاز به انتقال سرم به لوله های دیگر نمی باشد.

1-6-4) نمونه گیری و سانتریفوژ نمونه باید طبق دستورالعمل شرکت سازنده یا وارد کننده لوله های SST صورت گیرد.

پس از سانتریفوژ لخته در پایین لوله، سرم در بالای آن قرار و ژل در بین آن دو قرار خواهد گرفت.

نکته) در صورت عدم دسترسی به لوله حاوی ژل جدا کننده سرم (SST)، نمونه گرفته شده را در لوله آزمایش در دمای 37 درجه به مدت 15 دقیقه گذاشته و سپس سانتریفیوژ نمایید. برای هر بیمار، سرم را در سه لوله پلاستیکی درپیچدار(کرایوتیوپ) به حجم 1/5 میلی لیتر ریخته و درب آن را محکم بسته و سپس بوسیله پارافیلم بپوشانید. پس از درج مشخصات بیمار بر روی کرایوتیوب ها ، این لوله های

دربسته را در یک لوله بزرگتر (فالکون 50cc) قرار داده و درب آن را محکم بسته و بوسیله پارافیلم بپوشانید. (تصویر 4).



تصویر 4: کرایوتیوب ها در یک فالکون

1-7) دفع پسماند عفونی

1-7-1) شخص مسئول جمع آوری پسماند باید از وسایل حفاظت شخصی مناسب استفاده کند.

1-7-2) پسماند باید در کیسه های مخصوص دفع پسماند عفونی زرد و جدا از دیگر پسماندهای آزمایشگاهی جمع آوری شوند. کیسه نباید بیش از نصف ظرفیت خود پر شود.

1-7-3) به میزان 300-200 میلی لیترآب به کیسه اضافه شود.

1-7-4) لبه کیسه کشیده شود و دورآن را با چسب پهن محکم گردد.

1-7-5) تمام سطح کیسه را با دستمال آغشته به آب ژاول 1:10گندزدایی شود (اسپری ممنوع!).

1-7-6) کیسه در داخل یک کیسه مخصوص اتوکلاو قرار داده شود.

1-7-7) تمام سطح کیسه مخصوص اتوکلاو با دستمال آغشته به آب ژاول 1:10 گندزدایی گردد.

1-7-8) طبق شرایط اتوکلاو پسماندهای عفونی که 134 درجه به مدت 30 دقیقه می باشد اتوکلاو صوت گیرد و با استفاده از اندیکاتور شیمیایی و بیولوژیک صحت عملکرد اتوکلاو تایید شود.

1-7-9) کلیه پسماندهای تیز و برنده باید در ظروف ایمن (Safety Box) و حداکثر تا 3/4 حجم ظرف، جمع آوری و قبل از دفع اتو کلاو شده و به طریقه ایمن دفع گردند.

8-1) انتقال امن و ایمن نمونه

1-8-1) باید فرد و یا افراد مسئول انتقال نمونه، آموزش های لازم از جمله شناخت بیماری، رعایت الزامات ایمنی و امنیت زیستی، استفاده از وسایل حفاظت فردی، نحوه آلودگی زدایی و نیز روش صحیح انتقال نمونه به آزمایشگاه مرجع کشوری بیماری، انتقال نمونه در بخش های مختلف بیمارستان و آزمایشگاه را جهت جلوگیری از خطر انتقال بیماری به خود، همکاران، جامعه و محیط زیست را فرا گرفته باشند.

1-8-2) روش استاندارد بسته بندی نمونه عبارت است از:

1-2-8-1) جهت بسته بندی و انتقال نمونه، باید از سیستم سه لایه حمل و نقل نمونه های عفونی خطرناک (تصویر 5) استفاده نمود. مراحل بسته بندی در تصویر 6 نمایش داده شده است.

2-2-8-1) استفاده از تجهیزات حفاظت فردی استاندارد الزامی است.

3-2-8-1) ابتدا جهت رفع آلودگی احتمالی، اطراف لوله با محلول اتانول 70 درصد گندزدایی شود.

4-2-8-1) ماده جاذب رطوبت و ضربه گیر مانند دستمال کاغذی ضخیم به طور کامل به دور لوله پیچیده شود.

5-2-8-1) هر لوله حاوی سرم در داخل یک فالکون 50 سی سی در پیچدار مقاوم (که از قبل نام بیمار، نوبت نمونه گیری و تاریخ نمونه گیری توسط ماژیک ضد آب بر روی ان ثبت شده است) قرار داده شود.

نکته) در صورت جمع آوری در کرایوتیوب، هر سه کرایوتیوب حاوی نمونه داخل یک فالکون 50 سی سی قرار گیرد.

6-2-8-1) جهت حذف آلودگی احتمالی اطراف لوله فالکون با محلول سفید کننده خانگی با رقت 1:10 گندزدایی شود.

7-2-8-1) اطراف در لوله فالکون به طور کامل توسط پارافیلم پوشانده شود.

8-2-8-1) فالکون حاوی لوله در داخل محفظه سه لایه حمل و نقل نمونه های عفونی خطرناک قرار داده شود. این محفظه ها دارای مکان اختصاصی جهت قرار دادن فالکون هستند که نقش آیس

پک جهت حفظ سرما را نیز ایفا می کند. بنابراین مطابق دستورالعمل شرکت سازنده می بایست قبل از بسته بندی ، محفظه آیس پک در فریزر 20- در جه سانتی گراد قرار گیرد.

1-9) بارگذاری اطلاعات بیمار بر روی سامانه

1-9-1) قبل از ارسال نمونه، مشخصات بیمار به طور کامل در سامانه مخصوص پایش تب خونریزی دهنده کریمه کنگو و یا سامانه پایش دانگ، چیکنگونیا و زیکا بارگذاری شود (لازم به ذکر است از مرورگر اینترنت اکسپلورر استفاده کردد). پس از ثبت اطلاعات، سیستم برای هر بیمار یک کد رهگیری ایجاد می نماید.

لینک دسترسی به سامانه پایش تب خونریزی دهنده کریمه کنگو

http://www.health.gov.ir/mfdc/zoonosis/Lists/CCHF/view2.aspx

لینک دسترسی به سامانه پایش دانگ، چیکنگونیا و زیکا

http://www.health.gov.ir/mfdc/malaria/Lists/List3/view3.aspx

1-10) ارسال نمونه

1-10-1) نمونه های مربوط به بیماران محتمل و قطعی بیماری باید حداکثر تا 48 ساعت پس از نمونه گیری به آزمایشگاه مرجع کشوری آربوویروس ها و تب های خونریزی دهنده ویروسی انستیتو پاستور ایران تحویل گردد.

1-10-2) ارسال نمونه صرفاً توسط رابطین مراکز بهداشت باید انجام شود. به منظور جلوگیری از بروز هر گونه آلودگی و انتقال صحیح نمونه به آزمایشگاه، **از ارسال نمونه توسط پیک موتوری، تاکسی و پست عمومی اکیداً خودداری شود**.

1-10-3) قبل از ارسال نمونه جهت هماهنگی و اطمینان از آمادگی دریافت نمونه، با آزمایشگاه آربوویروس ها و تب های خونریزی دهنده ویروسی تماس گرفته شود.

1-10-4) به همراه نمونه، **کد رهگیری بیمار و نامه درخواست** آزمایش به آزمایشگاه ارسال گردد. نامه درخواست باید در پاکت تعبیه شده درقسمت داخلی محفظه بیرونی قرار داده شود. لازم به ذکر است در صورت ارسال نمونه بدون کد رهگیری یا نامه درخواست آزمایش، نمونه مورد آزمایش قرار نخواهد گرفت.

1-10-5) برروی محفظه انتقال نمونه موارد ذیل باید قید گردد:

1-5-10-1) نام،آدرس و شماره تماس فرستنده

2-5-10-1) نام و آدرس کامل گیرنده

3-5-10-1) عبارت **" مواد بیولوژیک کلاس A"** (**Biological substance, Category A**).

4-5-10-1) شرایط دمایی نگهداری نمونه در بیرون جعبه درج شود: یخچال یا فریزر (در صورت نیاز).

1-10-6) رعایت زنجیره سرد در تمامی مراحل بسته بندی و حمل نمونه به آزمایشگاه الزامی می باشد.

1-10-7) در صورت آسیب دیدن بسته بندی و یا نشت مواد باید فوراً به مسئولین مربوطه اطلاع داد.

1-10-8) مسئولیت ارسال کننده نمونه زمانی به پایان می رسد که نمونه عفونی تحت شرایط استاندارد به آزمایشگاه منتقل شده و رسید دریافت گردد.

تصویر 5: محفظه استاندارد بسته بندی و ارسال نمونه های عفونی. الف) نمای بیرونی، ب) اجزای محفظه.

تصویر 6: مراحل بسته بندی نمونه

11-1) نگهداری نمونه قبل از ارسال

1-11-1) سعی شود بلافاصله پس از نمونه گیری، نمونه به آزمایشگاه ارسال شود. با این وجود در صورت لزوم می توان نمونه را با توجه به نکات ذیل تا زمان ارسال نگهداری نمود.

2-11-1) نمونه در لوله های ژل دار پس از سانتریفوژ باید در **دمای 8-2** درجه سانتیگراد نگه داری شود و حداکثر طی مدت **48** ساعت با رعایت زنجیره سرد به آزمایشگاه تحویل داده شود. در صورتی که امکان انتقال در این مدت وجود نداشته باشد نمونه سرم زیر هود بیولوژیک کلاس 2 و با رعایت الزامات

ایمنی زیستی جدا شده و در 3 عدد کرایوتیوب (2میلی لیتری) تقسیم شود. کرایوتیوب ها در دمای **20**- درجه سانتیگراد حدکثر به مدت 7 روز قابل نگه داری می باشند.

3-11-1) اگر مدت زمان انتقال نمونه به آزمایشگاه بیشتر از یک هفته به طول انجامید، باید نمونه سرم جداسازی شده در دمای **منفی 70** درجه سانتیگراد نگهداری شود.

4-11-1) مراحل بسته بندی و ارسال کرایوتیوب ها مشابه لوله SST می باشد.

12-1) موارد عدم پذیرش نمونه

1-12-1) هرگونه نشت نمونه به بیرون از لوله

2-12-1) مخدوش بودن مشخصات برچسب نمونه

3-12-1) عدم هم‌خوانی مشخصات ذکر شده در فرم با مشخصات برچسب وکد نمونه

4-12-1) حجم نا کافی نمونه

5-12-1) جمع‌آوری نمونه در لوله های نامناسب (لوله حاوی ضد انعقاد هپارین)

6-12-1) استفاده از لوله نامناسب (بدون درپوش ، لوله شیشه ای)

7-12-1) نگهداری و انتقال در دمای نامناسب

8-12-1) عدم ثبت اطلاعات نمونه در سامانه مربوطه

آدرس و تلفن تماس آزمایشگاه مرجع کشوری آربو ویروس ها و تب های خونریزی دهنده ویروسی انستیتو پاستور ایران

1-3) آدرس: تهران- خیابان 12 فروردین- انستیتو پاستور ایران

2-3) تلفن: 02164112821