

تشخیص آزمایشگاهی

اگرچه تشخیص بالینی آبله میمونی اولین قدم در شناسایی موارد بیماری است، با این وجود تشخیص قطعی موارد تنها با تأیید آزمایشگاهی انجام می‌شود. به طور کلی روش‌های تشخیص آزمایشگاهی آبله میمونی عبارتند:

- شناسایی ژنوم ویروس با استفاده از PCR
 - جداسازی ویروس با کشت سلولی
 - شناسایی آنتی ژن ویروس
 - شناسایی آنتی بادی (طی ۴ تا ۵۶ روز پس از بروز بثورات قابل شناسایی است. آنتی بادی Ig M سرم ۵ روز پس از بروز بثورات و آنتی بادی IgG ۸ روز پس از بثورات قابل شناسایی می‌باشند)
- تأیید آزمایشگاهی روتین موارد مشکوک و محتمل (Suspected/Probable cases) آبله میمونی با استفاده از تست PCR انجام می‌شود و بهترین نمونه برای شناسایی ژنوم ویروس، ضایعات پوستی (سواب ترشحات ضایعات پوستی، پوسته رویی ضایعات و پوسته‌های خشک (lesion crust) می‌باشد.

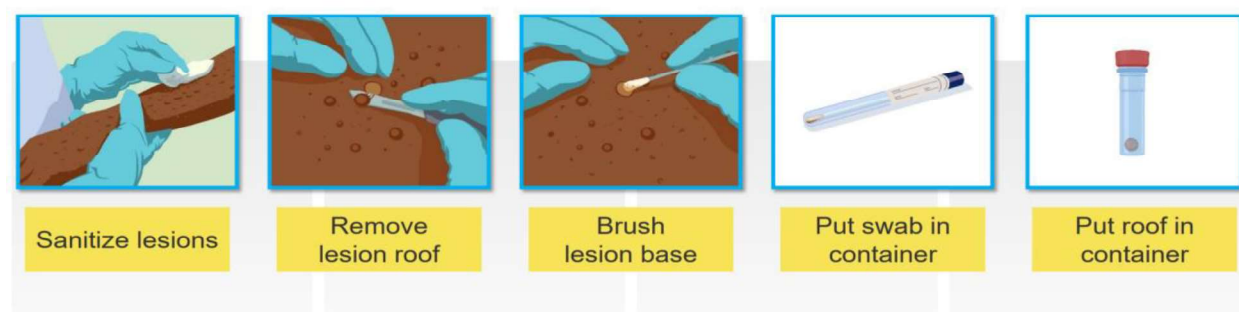
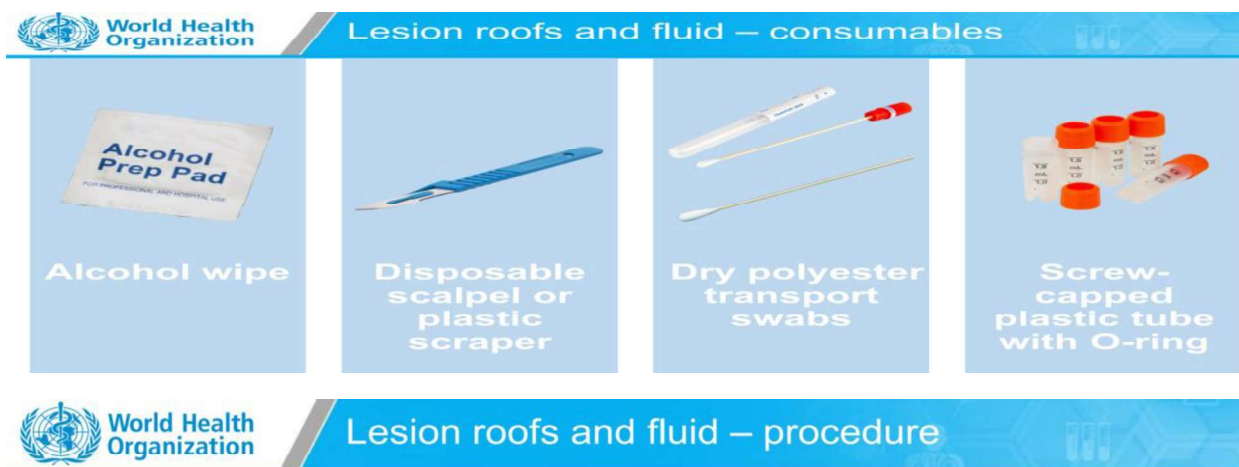
نوع نمونه و نمونه‌گیری:

- نمونه‌های تشخیصی عبارتند از:

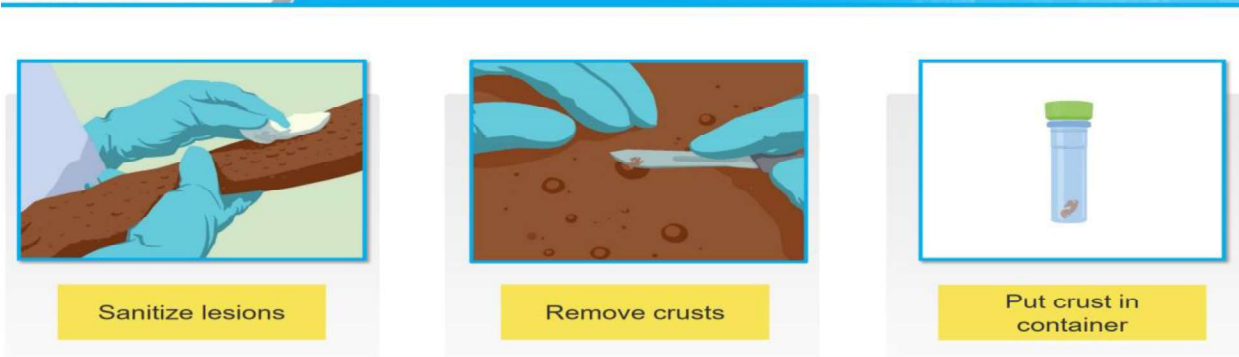
۱- ضایعات پوستی:

- بهترین نمونه توصیه شده برای تأیید آزمایشگاهی بیماری آبله میمونی، نمونه‌های تهیه شده از ضایعات پوستی شامل سواب از ترشحات و/یا سطح ضایعه (Vesicular/Pustular swab)، پوسته رویی ضایعه (Lesion roof) و پوسته‌های خشک (Lesion Crust) می‌باشد.
- در ضایعات وزیکولر یا پوسچولر ممکن است لازم باشد سقف ضایعه باز شود. بدین منظور ابتدا پس از ضدعفونی کردن ضایعه، پوسته رویی آن با تیغ جراحی استریل برداشته شود و در داخل کرایوتیوب قرار داده شود. سپس سواب به کف ضایعه به شدت مالیده شود تا اطمینان حاصل شود مواد سلولی به میزان کافی از کف آن برداشته شده است.
 - در تهیه سواب ترشحات، اطمینان حاصل شود که نوک سواب کاملاً آغشته به اگزودا شده است. به عبارت دیگر ترشحات باید روی سواب قابل مشاهده باشد.
 - سواب‌ها در لوله فالكون یا کرایوتیوب یا بدون محیط انتقال ویروس (VTM)، قرار داده شود.

- برای نمونه‌گیری از پوسته‌های خشک (Lesion crusts) با احتیاط و پس از ضد عفونی کردن ضایعه، پوسته با تیغ جراحی استریل برداشته شده و در داخل فالكون یا کرایوتیوب در پیچ‌دار با یا بدون محیط انتقال ویروس (VTM) قرار داده شود.
- از هر نوع ضایعه (سواب ترشحات ضایعات پوستی، پوسته رویی ضایعات یا پوسته‌های خشک) باید حداقل دو نمونه و ترجیحاً از ضایعات نقاط مختلف بدن که از نظر ظاهری متفاوت باشند، جمع‌آوری و در یک لوله قرار داده شود. توجه شود ضایعات، پوسته‌ها و مایعات وزیکولی نباید در یک لوله مخلوط شوند.
- برای افزایش احتمال شناسایی ویروس در صورت امکان برای هر بیمار ۲ فالكون/ کرایوتیوب (هر کدام حاوی حداقل ۲ نمونه پوسته از ضایعات مختلف) تهیه شود.
- بر روی فالكون/کرایوتیوب قبل از نمونه‌گیری، مشخصات بیمار از جمله نام بیمار، تاریخ نمونه‌گیری و نوع نمونه قید شود.



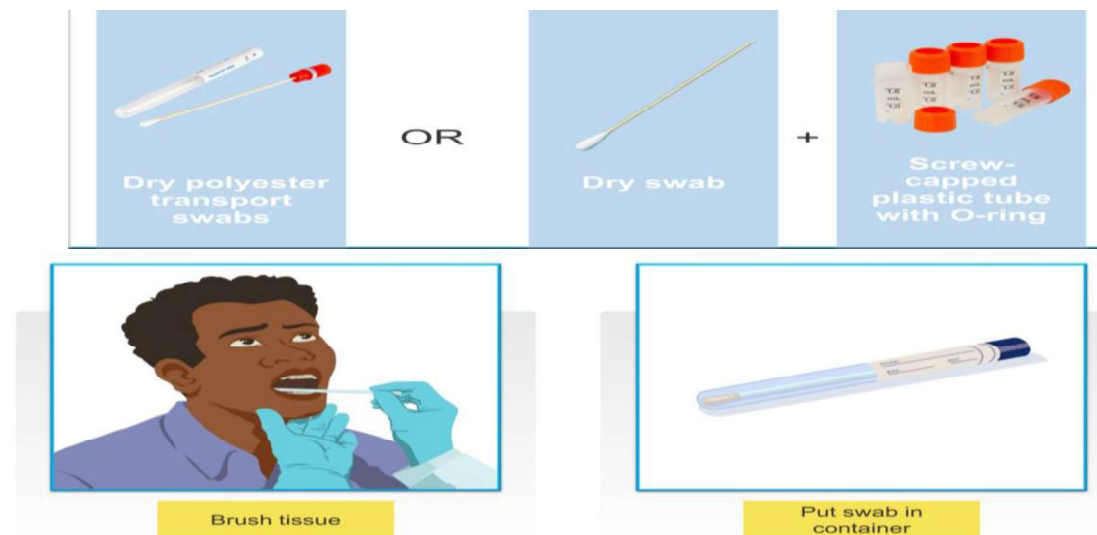
شکل (۱) وسایل مورد نیاز و روش تهیه سواب از کف ضایعات وزیکولر و ترشحات درون آنها



شکل (۲) وسایل مورد نیاز و روش تهیه نمونه پوسته‌های خشک (کراست)

۲- سواب اوروفارنکس

توصیه می‌شود علاوه بر نمونه ضایعه پوستی، یک نمونه سواب اوروفارنکس نیز جمع‌آوری گردد. هرچند، اطلاعات مربوط به صحت تشخیص بر روی این نمونه در بیماری آبله میمونی محدود است و تفسیر یک نتیجه منفی از نمونه سواب گلو باید با احتیاط انجام شود.



شکل (۳) وسایل مورد نیاز و روش تهیه نمونه سواب گلو (اوروفارنکس)

۳. سایر نمونه‌ها

در صورت نیاز و با هماهنگی آزمایشگاه مرجع کشوری می‌توان از نمونه‌های دیگر از جمله سواب نازوفارنکس، سرم/پلاسما، خون کامل، ادرار و مدفوع نیز برای امور تشخیص یا پژوهش استفاده نمود (جدول ۲).

Specimen type	Collection materials	Storage temperature	Collection purpose
Skin lesion material, including: – Swabs of lesion exudate – Lesion roofs – Lesion crusts	Dacron or polyester flocked swabs with VTM or dry swab	Refrigerate (2-8 °C) or freeze (-20°C or lower) within 1 hour of collection; -20°C or lower after 7 days	Recommended for diagnosis
Oropharyngeal swab	Dacron or polyester flocked swabs with VTM or dry swab	See above	Recommended for diagnosis if feasible, in addition to skin lesion material
Rectal and or genital swabs	Dacron or polyester flocked swabs with VTM or dry swab	See above	To be considered for research (following ethics guidelines)
Urine	Sterile collection tube	See above	To be considered for research (following ethics guidelines)
Semen	Sterile collection tube	Room temperature for <1h (then -20°C or lower)	To be considered for research (following ethics guidelines)
Whole blood	Sterile collection tube with EDTA	See above	To be considered for research (following ethics guidelines)
Serum	Serum-separating tubes	Refrigerate (2-8 °C) or freeze (-20°C or lower) within 1 hour of collection; -20°C or lower after 7 days	To be considered for serology to aid diagnosis or research (following ethics guidelines)
Plasma	collection tube with EDTA	See above	To be considered for serology to aid diagnosis or research (following ethics guidelines)

جدول (۱) سایر نمونه‌هایی که ممکن است برای تشخیص/پژوهش آبله میمونی مفید باشند.

نکته ۱: خون کامل دارای EDTA می‌تواند برای تشخیص در مراحل اولیه و قبل از بروز ضایعات پوستی استفاده شود. هرچند، بار ویروسی در خون در مرحله ویرمی کمتر از ضایعات پوستی است.

نکته ۲: جمع‌آوری نمونه از ضایعه در مرحله ماکولار فقط در صورت اندیکاسیون بالینی باید انجام شده و صرفاً توسط کارکنان آموزش‌دیده انجام شود. در شرایط فعلی، این نمونه‌های اضافی برای اهداف تشخیصی معمول در نظر گرفته نشده و کاربرد تحقیقاتی دارند.

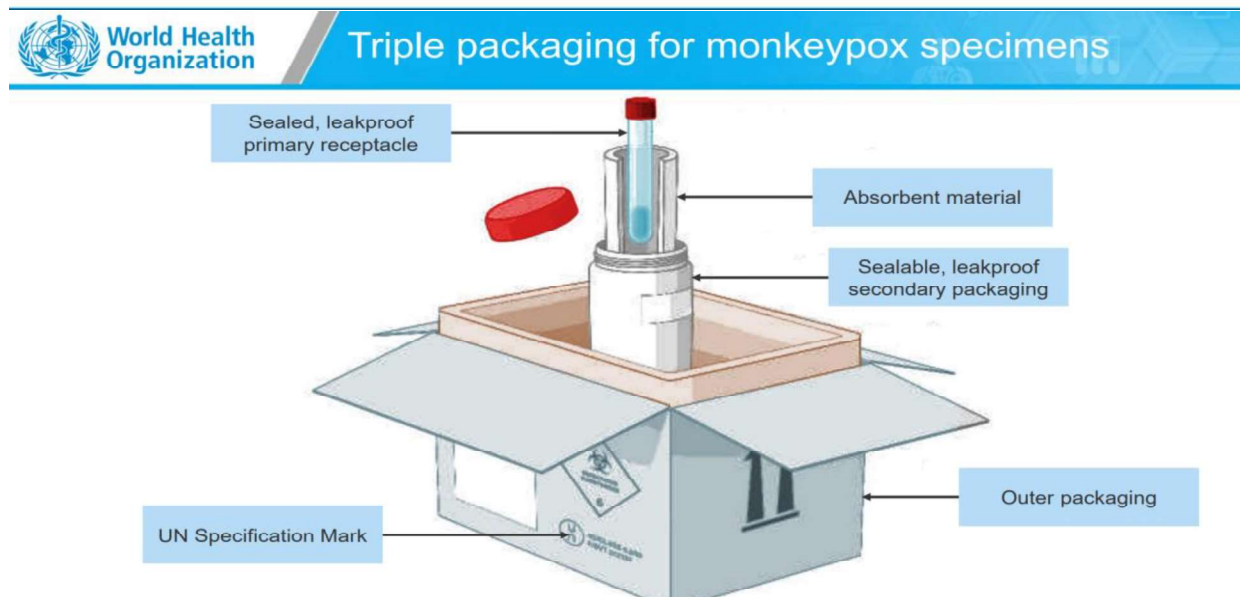
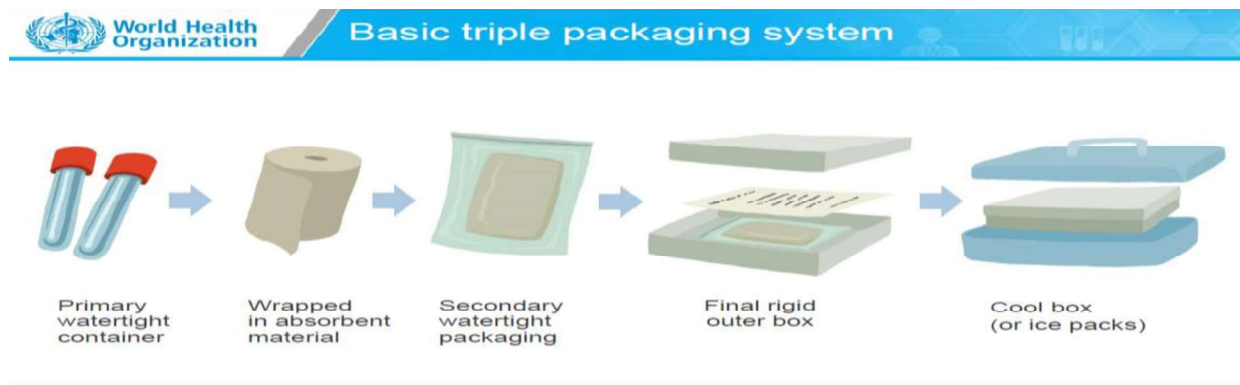
نکته ۳: یافتن آنتی‌بادی در پلاسما یا سرم نباید به تنهایی برای تشخیص آبله میمونی استفاده شود. هرچند، در مواقعی که نتیجه PCR قطعی نمی‌باشد، یافتن آنتی‌بادی IgM در فاز حاد بیماری یا افزایش تیتراژ IgG در دو نمونه سرم با فاصله ۲۱ روز که اولین نمونه در هفته اول بیماری جمع‌آوری شده باشد، می‌تواند به تشخیص کمک کند.

توجه: واکسیناسیون اخیر ممکن است با آزمایشات سرولوژیکی تداخل داشته باشد.

بسته‌بندی و انتقال نمونه:

برای بسته‌بندی و ارسال نمونه می‌بایست از ظروف ۳ لایه مخصوص نمونه‌های عفونی (شکل ۵) استفاده نمود.

- ارسال نمونه‌ها می‌بایست با رعایت زنجیره سرد (۴ درجه سانتی گراد) انجام شود.
- به همراه نمونه می‌بایست نامه درخواست مکتوب آزمایش و فرم اطلاعات بیمار به آزمایشگاه ارسال شود.



شکل (۴): محفظه استاندارد ۳ لایه برای بسته‌بندی و انتقال نمونه‌های عفونی

نگهداری نمونه: نمونه‌ها در اسرع وقت باید به آزمایشگاه ارسال شود. حداکثر طی یک ساعت پس از نمونه‌گیری باید نمونه به یخچال با دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد و یا به دمای زیرمنهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد انتقال داده شود.

اگر از انجام نمونه‌گیری تا انجام آزمایش بیش از ۷ روز طول بکشد، می‌بایست نمونه در دمای منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد یا پایین‌تر نگهداری شود. در غیر اینصورت چنانچه انجام آزمایش کمتر از ۷ روز پس از نمونه‌گیری امکان‌پذیر است، می‌توان نمونه را در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری کرد.

انتقال امن و ایمن نمونه

- قبل از انتقال نمونه باید آزمایشگاه مرجع کشوری بیماری (انستیتو پاستور ایران به شماره تماس ۰۲۱۶۴۱۱۲۵۴۲) یا آزمایشگاه قطب مربوطه از ارسال نمونه مطلع گردد.
- باید فرد و یا افراد مسئول انتقال نمونه، آموزش‌های لازم از جمله شناخت بیماری، رعایت الزامات ایمنی و امنیت زیستی، استفاده از وسایل حفاظت فردی، نحوه آلودگی‌زدایی و نیز روش صحیح انتقال نمونه به آزمایشگاه مرجع کشوری بیماری، انتقال نمونه در بخش‌های مختلف بیمارستان و آزمایشگاه را جهت جلوگیری از خطر انتقال بیماری به خود، همکاران، جامعه و محیط زیست را فرا گرفته باشند.

روش استاندارد بسته‌بندی نمونه‌ها

- باید توجه داشت که جهت بسته‌بندی و انتقال نمونه، باید از سیستم سه لایه ای استاندارد استفاده کرد.
- ترجیحاً از دو دستکش که روی هم پوشیده شده، استفاده شود.
- اطراف لوله جهت رفع آلودگی احتمالی با ماده گندزدای مناسب مانند محلول سفید کننده خانگی با رقت ۱۰٪ گندزدایی گردد. محل اتصال در لوله حاوی نمونه و بدنه با پارافیلیم بسته شود. ماده جاذب و ضربه گیر مانند حوله کاغذی و یا دستمال‌های جاذب با توجه به حجم مایع، به طور کامل دور آن پیچیده شود.
- سپس لوله داخل زیپ کیپ با کیفیت و کوچک قرار داده شود.
- زیپ کیپ داخل لوله فالكون در پیچ دار مقاوم قرار داده شود (جمعا محفظه اولیه را تشکیل می‌دهد).
- در این مرحله باید دستکش رویی خارج شود بدین صورت که در ابتدا با کمک دست راست قسمت انتهایی دستکش دست چپ را گرفته و آن را از دست خارج نموده و دستکش دست چپ را در کف دست راست جمع کرده و نگه می‌داریم. سپس با کمک دو انگشت دست چپ (انگشت اشاره و انگشت کناری آن) قسمت بالای دستکش دست راست را گرفته و دستکش دست راست را بر روی دستکشی که در وسط دست نگه داشته‌ایم، بر می‌گردانیم و با نوک انگشت دست چپ قسمت داخلی دستکش را گرفته و در کیسه مخصوص جمع‌آوری پسماند عفونی می‌اندازیم.

- از این زمان به بعد با دستکش زیرین کار ادامه می‌یابد.
- اطراف لوله فالكون با ماده گندزدای مناسب مانند محلول سفید کننده خانگی با رقت ۱۰٪ گندزدایی می‌شود.
- می‌توان لوله فالكون را داخل Cold Box قرار داده و به کمک چند Ice Pack، آن را ثابت نمود و یا لوله فالكون را داخل محفظه‌های استاندارد که دارای Ice Pack است، قرار داده و سپس این محفظه را داخل محفظه نهایی یا جعبه تهیه شده توسط سازنده محفظه قرار داد.
- در صورت استفاده از محفظه‌های تجاری، با توجه به اینکه ویروس Monkey Pox در گروه مواد عفونی A قرار می‌گیرد، بر روی محفظه بیرونی تجاری، قسمت مرتبط علامت گذاری شود و یا از محفظه های مخصوص حمل مواد عفونی گروه A، استفاده گردد.

