

بیماری، شناسایی آنتی بادی‌ها عملاً امکان پذیر نیست.

۳-۱) روش معمول تشخیص در ایران

در حال حاضر، در آزمایشگاه مرجع کشوری آربوویروس‌ها و تب‌های خونریزی دهنده ویروسی انستیتو پاستور ایران استراتژی معمول تشخیص آزمایشگاهی عفونت حاد CCHF شامل شناسایی ژنوم ویروس با روش RT-PCR و ردیابی آنتی بادی IgM با روش الایزا در نمونه سرم است.

۲) دستور عمل مدیریت تهیه نمونه آزمایشگاهی بیماران محتمل و قطعی

به تب خونریزی دهنده کریمه کنگو

۲-۱) الزامات نمونه گیری

۱-۱-۲) قبل از انجام نمونه گیری، مراکز و مسئولین مرتبط در آزمایشگاه و نیز دیگر مراکز با راهنمای کشوری مبارزه با تب خونریزی دهنده کریمه کنگو آشنا باشند.

۲-۱-۲) فرد (افراد) نمونه گیر باید آموزش‌های 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 آموزش‌های لازم را دیده باشند.

۳-۱-۲) همواره برای انجام نمونه گیری، در خصوص احتمال وجود بیماری‌های عفونی خطرناک، باید فرد دیگری به عنوان فرد کمک کننده حضور داشته باشد. بدیهی است که این فرد باید آموزش‌های لازم را فرا گرفته و از پوشش‌های حفاظت فردی مناسب استفاده نماید.

۴-۱-۲) رعایت پوشش حفاظت فردی الزامی است. پوشش محافظت فردی استاندارد برای تب‌های خونریزی دهنده ویروسی از جمله CCHF (تصویر ۱۲) عبارت است از: دو لایه دستکش (نیتریل یا لاتکس)،

گان یکسره^{۴۲} مقاوم در مقابل نفوذ مایعات، ماسک N95، محافظ صورت^{۴۳} یا عینک محافظ، کفش آزمایشگاهی با رویه بسته (در صورت لزوم باید از روکش کفش و چکمه پلاستیکی استفاده شود).
۵-۱-۲) ترتیب پوشیدن و بیرون آوردن^{۴۴} تجهیزات حفاظت فردی از اهمیت بالایی برخوردار است که بایستی آموزش‌های لازم در این زمینه توسط مسئول کنترل عفونت بیمارستان به مسئول نمونه‌گیر داده شده باشد.

۶-۱-۲) از تهیه نمونه در لوله‌های شیشه‌ای، لوله‌های بدون درب، و لوله‌های حاوی ضد انعقاد هپارین جداً خودداری شود.

۲-۲) الگوی نمونه‌گیری

۱-۲-۲) نمونه‌گیری از هر بیمار حداقل در ۲ نوبت و به شرح زیر است:
۲-۱-۱) نمونه اول (A): بلافاصله پس از تشخیص بالینی و در صورت امکان قبل از شروع درمان با ریبوورین.
سعی شود نمونه اول در نزدیک‌ترین زمان ممکن از بروز علائم تا حداکثر ۵ روز بعد از بروز علائم تهیه شود.
۲-۱-۲) نمونه دوم (B): ۵ روز پس از نمونه اول
۲-۱-۳) در صورتی که با دو نمونه اول و دوم تشخیص آزمایشگاهی موفقیت‌آمیز نبود، نمونه سوم (C) با فاصله ۵ روز از نمونه دوم درخواست می‌شود.

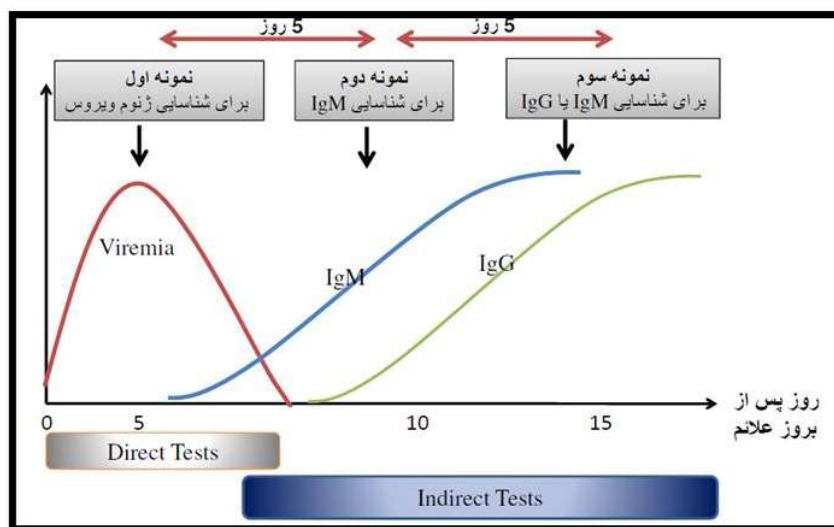
⁴² Coverall

⁴³ Shield

⁴⁴ Donning and Doffing



تصویر شماره (۱۱) تجهیزات حفاظتی استاندارد برای تب های خونریزی دهنده ویروسی



تصویر شماره ۱۲) دینامیک عفونت ویروس CCHF و الگوریتم تشخیص آزمایشگاهی.

۳-۲) مسوول نمونه‌گیری

۱-۳-۲) مسئول نمونه‌گیری به عهده نمونه‌گیر آزمایشگاه و در صورت عدم حضور نمونه‌گیر با پرستار آموزش دیده در بخش می‌باشد.

۴-۲) نوع نمونه

۲-۴-۱) نمونه مورد نیاز، خون کامل بدون ماده ضد انعقاد است. برای انجام آزمون‌های تشخیصی از سرم استفاده می‌شود.

۲-۴-۲) در موارد نمونه‌برداری از جسد، بیوپسی کبد برای تشخیص آزمایشگاهی توصیه می‌شود. باید به این نکته ضروری توجه داشت که انجام بیوپسی کبد از بیمار محتمل به تب خونریزی‌دهنده کریمه کنگو نیازمند رعایت کامل نکات ایمنی زیستی مذکور است.

۵-۲) نحوه نمونه‌گیری

۱-۵-۲) قبل از اقدام به نمونه‌گیری، از فراهم بودن ملزومات نمونه‌گیری شامل سیستم خونگیری خلاء (ونوجکت)، لوله حاوی ژل جداکننده سرم (SST)^{۴۵}، محلول‌های گندزدای مناسب مانند اتانول ۷۰ درصد و سفیدکننده خانگی با رقت ۱:۱۰، ظروف ایمن safety box برای دفع پسماندهای تیز و برنده و مازیک ضد آب جهت درج مشخصات بیمار بر روی لوله اطمینان حاصل شود.

۲-۵-۲) با استفاده از سیستم خونگیری خلاء (ونوجکت)، ۸ تا ۱۰ میلی لیتر خون وریدی در لوله‌های حاوی ژل جداکننده سرم (SST) تهیه شود. مزیت این لوله‌ها این است که پس از جداسازی سرم توسط سانتریفیوژ، ژل داخل لوله بین سلول‌های خونی و سرم قرار می‌گیرد و بنابراین نیازی به انتقال سرم به لوله‌های دیگر نمی‌باشد. بنابراین نمونه سرم در همان لوله ای که در زمان خون‌گیری مورد استفاده قرار گرفته است قابل ارسال است (تصویر ۳).

۳-۵-۲) علیرغم رعایت احتیاط‌های لازم، ترجیحاً اطراف لوله حاوی نمونه با مواد گندزدای مناسب مانند اتانول ۷۰ درصد گندزدایی شود. بعد از گندزدایی جدار لوله، می‌توان بر روی آن برچسب خطر زیستی نصب نمود و یا بر روی لوله با مازیک مقاوم به آب عبارت «خطر سرایت بیماری» درج شود.

۴-۵-۲) با استفاده از مازیک ضد آب نام کامل بیمار، نوبت نمونه‌گیری و تاریخ نمونه‌گیری بر روی لوله درج شود.

۵-۵-۲) محل اتصال در لوله حاوی نمونه و بدنه با پارافیلیم پوشانده شود.

۲-۶-۶) جداسازی سرم

۲-۶-۱) بلافاصله پس از خونگیری لوله را حداقل ۵ مرتبه به آرامی به صورت

⁴⁵ Serum Separating Tube (SST)

up & down حرکت بدهید تا ایجاد لخته تسریع شود.

۲-۶-۲) لوله را در دمای اتاق به مدت ۱۵ دقیقه قرار دهید تا لخته تشکیل شود.

۲-۶-۳) سانتریفوژ لوله (طبق پروتکل شرکت سازنده لوله) با رعایت این نکات انجام شود: از سانتریفوژهایی که باکتهای آنها دارای درپوش است و یا سانتریفوژهای دارای کاپ استفاده شود.

پس از اتمام سانتریفوژ نیاز به انتقال سرم به لوله‌های دیگر نیست.

۲-۶-۴) نمونه‌گیری و سانتریفوژ نمونه باید طبق دستورالعمل شرکت سازنده یا واردکننده لوله‌های SST صورت گیرد.



تصویر شماره ۱۳) لوله SST قبل از سانتریفوژ و بعد از آن

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

۲-۷) دفع پسماند عفونی

۲-۷-۱) شخص مسئول جمع‌آوری پسماند باید از وسایل حفاظت شخصی مناسب استفاده کند.

۲-۷-۲) پسماند باید در کیسه‌های مخصوص دفع پسماند عفونی زرد و جدا از دیگر پسماندهای آزمایشگاهی جمع‌آوری شوند. کیسه نباید بیش از نصف ظرفیت خود پر شود.

۲-۷-۳) به میزان ۲۰۰-۳۰۰ میلی لیتر آب به کیسه اضافه شود.

۲-۷-۴) لبه کیسه کشیده شود و دور آن با چسب پهن محکم شود.

۲-۷-۵) تمام سطح کیسه را با دستمال آغشته به آب ژاول ۱:۱۰ گندزدایی شود (اسپری ممنوع!).

۲-۷-۶) کیسه در داخل یک کیسه مخصوص اتوکلاو قرار داده شود.

۲-۷-۷) تمام سطح کیسه مخصوص اتوکلاو با دستمال آغشته به آب ژاول ۱:۱۰ گندزدایی شود.

۲-۷-۸) طبق شرایط اتوکلاو پسماندهای عفونی که ۱۳۴ درجه به مدت ۳۰ دقیقه است، اتوکلاو صورت گیرد و با استفاده از اندیکاتور شیمیایی و بیولوژیک صحت عملکرد اتوکلاو تایید شود.

۲-۷-۹) کلیه پسماندهای تیز و برنده باید در ظروف ایمن^{۴۶} (سیفتی باکس) و حداکثر تا ۳/۴ حجم ظرف، جمع‌آوری و قبل از دفع اتوکلاو شده و به طریقه ایمن دفع شود.

۲-۸) انتقال امن و ایمن نمونه

۲-۸-۱) باید فرد و یا افراد مسوول انتقال نمونه، آموزش‌های لازم از جمله

⁴⁶ Safety Box

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 برای جلوگیری از خطر انتقال بیماری به خود، همکاران، جامعه و محیط زیست فرا گرفته باشند.

۲-۸-۲) روش استاندارد بسته بندی نمونه عبارت است از:

۲-۸-۲-۱) برای بسته بندی و انتقال نمونه، باید از سیستم سه لایه حمل و نقل نمونه های عفونی خطرناک (تصویر ۴) استفاده نمود. مراحل بسته بندی در تصویر ۵ نمایش داده شده است.

۲-۸-۲-۲) استفاده از تجهیزات حفاظت فردی استاندارد الزامی است.

۲-۸-۲-۳) ابتدا برای رفع آلودگی احتمالی، اطراف لوله با محلول اتانول ۷۰ درصد گندزدایی شود.

۲-۸-۲-۴) ماده جاذب رطوبت و ضربه گیر مانند دستمال کاغذی ضخیم به طور کامل به دور لوله پیچیده شود.

۲-۸-۲-۵) هر لوله حاوی سرم در داخل یک فالكون در پیچ دار مقاوم (که از قبل نام بیمار، نوبت نمونه گیری و تاریخ نمونه گیری توسط ماژیک ضد آب بر روی آن ثبت شده است) قرار داده شود.

۲-۸-۲-۶) برای حذف آلودگی احتمالی اطراف لوله فالكون با محلول سفیدکننده خانگی با رقت ۱:۱۰ گندزدایی شود.

۲-۸-۲-۷) اطراف در لوله فالكون به طور کامل توسط پارافیلیم پوشانده شود.

۲-۸-۲-۸) فالكون حاوی لوله در داخل محفظه سه لایه حمل و نقل نمونه های عفونی خطرناک قرار داده شود. این محفظه ها دارای مکان اختصاصی برای قرار دادن فالكون هستند که نقش آیس پک منظور حفظ سرما را نیز ایفا می شد. بنابراین مطابق

دستورالعمل شرکت سازنده باید قبل از بسته بندی، محفظه آیس پک در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد قرار گیرد.

۹-۲) بارگذاری اطلاعات بیمار بر روی سامانه
۲-۹-۱) قبل از ارسال نمونه، مشخصات بیمار به طور کامل در سامانه مخصوص پایش تب خونریزی دهنده کریمه کنگو بارگذاری شود. پس از ثبت اطلاعات، سیستم برای هر بیمار یک کد رهگیری ایجاد می نماید.

۱۰-۲) ارسال نمونه
۲-۱۰-۱) نمونه های مربوط به بیماران محتمل بیماری باید حد اکثر تا ۴۸ ساعت پس از نمونه گیری به آزمایشگاه مرجع کشوری آربوویروس ها و تب های خونریزی دهنده ویروسی انستیتو پاستور ایران تحویل گردد.
۲-۱۰-۲) ارسال نمونه صرفاً توسط رابطین مراکز بهداشت باید انجام شود. به منظور جلوگیری از بروز هرگونه آلودگی و انتقال صحیح نمونه به آزمایشگاه، از ارسال نمونه توسط پیک موتوری، تاکسی و پست عمومی اکیداً خودداری شد.

۲-۱۰-۳) قبل از ارسال نمونه، برای هماهنگی و اطمینان از آمادگی دریافت نمونه، با آزمایشگاه آربوویروس ها و تب های خونریزی دهنده ویروسی تماس گرفته شود.

۲-۱۰-۴) به همراه نمونه، کد رهگیری بیمار و نامه درخواست آزمایش به آزمایشگاه ارسال شود. نامه درخواست باید در پاکت تعبیه شده در قسمت 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.

- ۵-۱۰-۲) برروی محفظه انتقال نمونه، موارد زیر باید قید شود:
- ۵-۱۰-۱) نام، آدرس و شماره تماس فرستنده
- ۵-۱۰-۲) نام و آدرس کامل گیرنده
- ۵-۱۰-۳) عبارت «مواد بیولوژیک کلاس A» (Biological substance, Category A).
- ۵-۱۰-۴) شرایط دمایی نگهداری نمونه در بیرون جعبه درج شود: یخچال یا فریزر (در صورت نیاز).
- ۵-۱۰-۶) رعایت زنجیره سرد در تمامی مراحل بسته بندی و حمل نمونه به آزمایشگاه الزامی می باشد.
- ۵-۱۰-۷) در صورت آسیب دیدن بسته بندی و یا نشت مواد باید فوراً به مسوولین مربوطه اطلاع داد.
- ۵-۱۰-۸) مسئولیت ارسال کننده نمونه زمانی به پایان می رسد که نمونه عفونی تحت شرایط استاندارد به آزمایشگاه منتقل شده و رسید دریافت شود.



تصویر شماره ۱۴) محفظه استاندارد بسته بندی و ارسال نمونه های عفونی.
الف) نمای بیرونی، ب) اجزای محفظه.



تصویر شماره ۱۵) مراحل بسته بندی نمونه

۲-۱۱) نگهداری نمونه قبل از ارسال

۲-۱۱-۱) سعی شود بلافاصله پس از نمونه‌گیری، نمونه به آزمایشگاه ارسال شود. با این وجود در صورت لزوم می‌توان نمونه را با توجه به نکات زیر تا زمان ارسال نگهداری نمود.

۲-۱۱-۲) نمونه در لوله‌های ژل‌دار پس از سانتریفوژ باید در دمای ۲ الی ۸

درجه سانتی‌گراد نگهداری شود و حداکثر طی مدت ۴۸ 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 ۲ و با رعایت الزامات ایمنی زیستی جدا شده و در ۳ عدد کرایوتیوب (۲ میلی لیتری) تقسیم شود. کرایوتیوب‌ها در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد حداکثر به مدت ۷ روز قابل نگه‌داری هستند.

۲-۱۱-۳) اگر مدت زمان انتقال نمونه به آزمایشگاه بیشتر از یک هفته به

طول انجامید، باید نمونه سرم جداسازی شده در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود.

۲-۱۱-۳) مراحل بسته‌بندی و ارسال کرایوتیوب‌ها مشابه لوله SST است.

۲-۱۲) موارد عدم پذیرش نمونه

۲-۱۲-۱) هرگونه نشت نمونه به بیرون از لوله

۲-۱۲-۲) مخدوش بودن مشخصات برچسب نمونه

۲-۱۲-۳) عدم هم‌خوانی مشخصات ذکر شده در فرم با مشخصات برچسب و کد نمونه

۲-۱۲-۴) حجم ناکافی نمونه

۲-۱۲-۵) جمع‌آوری نمونه در لوله‌های نامناسب (لوله حاوی ضد انعقاد هپارین)