

دستور العمل مدیریت نمونه بیماران محتمل و قطعی به تب خونریزی دهنده کریمه کنگو

1) الزامات نمونه گیری

- 1-1) قبل از انجام نمونه گیری، مراکز و مسئولین مرتبط در آزمایشگاه و نیز دیگر مراکز طبق راهنمای کشوری مبارزه با تب خونریزی دهنده کریمه کنگو آگاه 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) تجهیزات 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) الگوی نمونه گیری

- 2-1) نمونه گیری از هر بیمار حداقل در 2 نوبت و به شرح ذیل می باشد:
- 2-1-1) نمونه اول (A): بلافاصله پس از تشخیص بالینی و قبل از شروع درمان با ریباویرین.

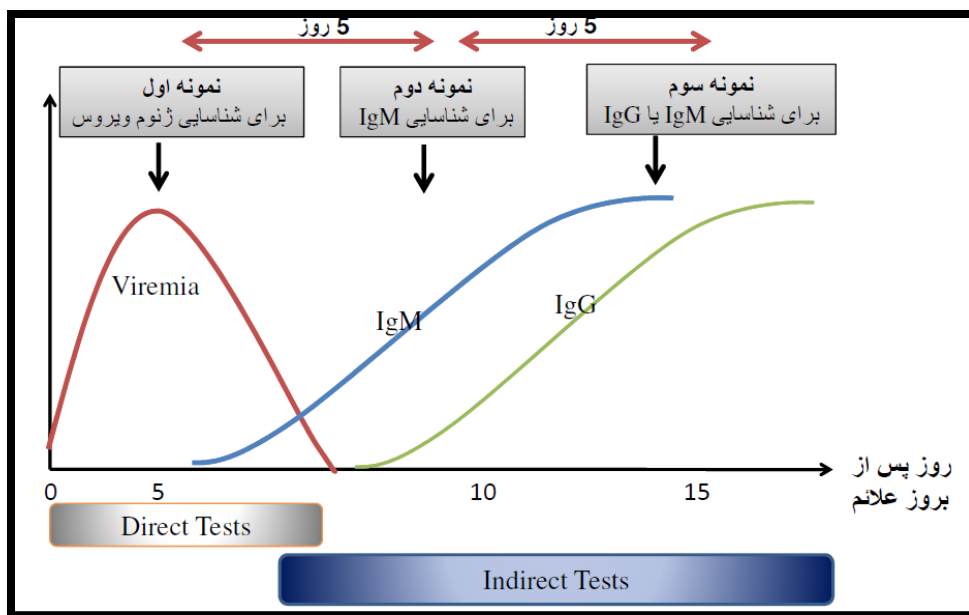
2-1-2) سعی شود نمونه اول در نزدیک ترین زمان ممکن از بروز علائم تا حداکثر 5 روز بعد از بروز علائم تهیه شود.

2-1-3) نمونه دوم (B): 5 روز پس از نمونه اول

2-1-4) 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 تب های خونریزی دهنده ویروسی



تصویر 2) دینامیک عفونت ویروس CCHF و الگوریتم تشخیص آزمایشگاهی.

3) نوع نمونه

- 3-1) نمونه مورد نیاز خون کامل بدون ماده ضد انعقاد می باشد. جهت انجام آزمون های تشخیصی از سرم استفاده می گردد. بنابراین نمونه ارسالی باید سرم باشد.
- 3-2) 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 تب خونریزی دهنده کریمه کنگو نیازمند رعایت کامل نکات ایمنی زیستی مذکور می باشد.

4) نحوه نمونه گیری

- 4-1) 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 مازیک ضد آب جهت درج مشخصات بیمار بر روی لوله اطمینان حاصل شود.

¹ Serum Separating Tube (SST)

2-4) 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 سانتریفوژ، 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).

3-4) 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 مایک مقاوم به آب عبارت "خطر سرایت بیماری" درج گردد. 4-4) با استفاده از مایک ضد آب نام کامل بیمار، نوبت نمونه گیری و تاریخ نمونه گیری بر روی لوله درج شود.

5-4) محل اتصال در لوله حاوی نمونه و بدنه با پارافیلیم پوشانده شود.

5) جداسازی سرم

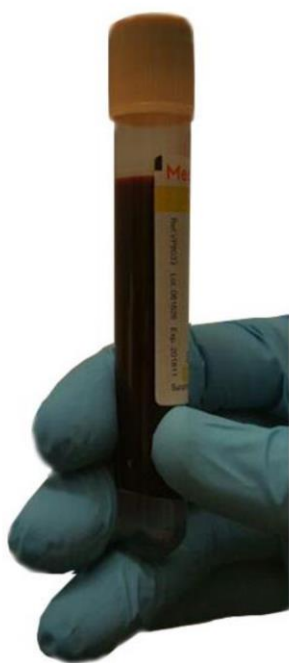
1-5) بلافاصله پس از خونگیری لوله را حداقل 5 مرتبه به آرامی به صورت up & down حرکت دهید تا ایجاد لخته تسریع شود.

2-5) لوله را در دمای اتاق به مدت 15 دقیقه قرار دهید تا لخته تشکیل شود.

3-5) سانتریفوژ لوله (طبق پروتکل شرکت سازنده لوله) با رعایت این نکات انجام شود: از سانتریفوژهایی که باکت های آنها دارای درپوش است و یا سانتریفوژ های دارای کاپ استفاده شود. پس از اتمام سانتریفوژ نیاز به انتقال سرم به لوله های دیگر نمی باشد.

4-5) نمونه گیری و سانتریفوژ نمونه باید طبق دستورالعمل شرکت سازنده یا وارد کننده لوله های SST صورت گیرد.

² Serum Separating Tube (SST)



قبل از سانتریفیوژ



بعد از سانتریفیوژ

تصویر 3: لوله SST قبل از سانتریفیوژ و بعد از آن، پس از سانتریفیوژ لخته در پایین لوله، سرم در بالای آن قرار و ژل در بین آن دو قرار خواهد گرفت.

6) دفع پسماند عفونی

- 6-1) شخص مسئول جمع آوری پسماند باید از وسایل حفاظت شخصی مناسب استفاده کند.
- 6-2) 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.
- 6-3) لبه کیسه کشیده شود و دور آن را با چسب پهن محکم گردد.
- 6-4) تمام سطح کیسه را با دستمال آغشته به آب ژاول 1:10 گندزدایی شود (اسپری ممنوع!).
- 6-5) کیسه در داخل یک کیسه مخصوص اتوکلاو قرار داده شود.
- 6-6) تمام سطح کیسه مخصوص اتوکلاو با دستمال آغشته به آب ژاول 1:10 گندزدایی گردد.

7-6) 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.

8-6) کلیه پسماندهای تیز و برنده باید در ظروف ایمن (Safety Box) و حداکثر تا 3/4 حجم ظرف، جمع آوری و قبل از دفع، اتوکلاو شده و به طریق ایمن دفع گردند.

7) انتقال امن و ایمن نمونه

1-7) 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.

2-7) روش استاندارد بسته بندی نمونه عبارت است از:

1-2-7) جهت بسته بندی و انتقال نمونه، باید از سیستم سه لایه حمل و نقل نمونه های عفونی خطرناک (تصویر 4) استفاده نمود. مراحل بسته بندی در تصویر 5 نمایش داده شده است.

2-2-7) استفاده از تجهیزات حفاظت فردی استاندارد الزامی است.

3-2-7) ابتدا جهت رفع آلودگی احتمالی، اطراف لوله با محلول اتانول 70 درصد گندزدایی شود.

4-2-7) ماده جاذب رطوبت و ضربه گیر مانند دستمال کاغذی ضخیم به طور کامل به دور لوله پیچیده شود.

5-2-7) هر لوله حاوی سرم در داخل یک فالكون درپيچدار مقاوم (كه از قبل نام بیمار، نوبت نمونه گیری و تاریخ نمونه گیری توسط مازیک ضد آب بر روی آن ثبت شده است) قرار داده شود.

6-2-7) جهت حذف آلودگی احتمالی اطراف لوله فالكون با محلول سفید کننده خانگی با رقت 1:10 گندزدایی شود.

7-2-7) اطراف در لوله فالكون به طور کامل توسط پارافيلم پوشانده شود.

8-2-7) فالكون حاوی لوله در داخل محفظه سه لایه حمل و نقل نمونه های عفونی خطرناک قرار داده شود. این محفظه ها دارای مكان اختصاصی جهت قرار دادن فالكون هستند كه 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- درجه سانتی گراد قرار گیرد.

(8) بارگذاری اطلاعات بیمار بر روی سامانه

8-1) 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.

(9) ارسال نمونه

9-1) نمونه های مربوط به بیماران محتمل و قطعی بیماری باید حد اکثر تا 48 ساعت پس از نمونه گیری به آزمایشگاه مرجع کشوری آربوویروس ها و تب های خونریزی دهنده ویروسی انستیتو پاستور ایران تحویل گردد.

9-2) 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.**

9-3) 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.

9-4) به همراه نمونه، **کد رهگیری بیمار و نامه درخواست** آزمایش به آزمایشگاه ارسال گردد. 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.

9-5) برروی محفظه انتقال نمونه موارد ذیل باید قید گردد:

9-5-1) نام، آدرس و شماره تماس فرستنده

9-5-2) نام و آدرس کامل گیرنده

9-5-3) عبارت "**مواد بیولوژیک کلاس A (Biological substance, Category A)**".

9-5-4) شرایط دمایی نگهداری نمونه در بیرون جعبه درج شود: یخچال یا فریزر (در صورت نیاز).

- 9-6) رعایت زنجیره سرد در تمامی مراحل بسته بندی و حمل نمونه به آزمایشگاه الزامی می باشد.
- 9-7) در صورت آسیب دیدن بسته بندی و یا نشست مواد باید فوراً به مسئولین مربوطه اطلاع داد.
- 9-8) مسئولیت ارسال کننده نمونه زمانی به پایان می رسد که نمونه عفونی تحت شرایط استاندارد به آزمایشگاه منتقل شده و رسید دریافت گردد.



تصویر 4: محفظه استاندارد بسته بندی و ارسال نمونه های عفونی. الف) نمای بیرونی، ب) اجزای محفظه.



تصویر 5: مراحل بسته بندی نمونه

10) نگهداری نمونه قبل از ارسال

10-1) 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.

10-2) نمونه سرم در لوله های ژل دار پس از سانتریفوژ باید در **دمای 2-8** 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 (2 میلی لیتری) تقسیم شود. کرایوتیوب ها در **دمای -20** درجه سانتیگراد حداکثر به مدت 7 روز قابل نگه داری می باشند.

10-3) 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.

10-4) مراحل بسته بندی و ارسال کرایوتیوب ها مشابه لوله SST می باشد.

11) موارد عدم پذیرش نمونه

- 11-1) هرگونه نشت نمونه به بیرون از لوله
- 11-2) مخدوش بودن مشخصات برچسب نمونه
- 11-3) عدم همخوانی مشخصات ذکر شده در فرم با مشخصات برچسب و کد نمونه
- 11-4) حجم ناکافی نمونه
- 11-5) جمع آوری نمونه در لوله های نامناسب (لوله حاوی ضد انعقاد هپارین)
- 12-6) استفاده از لوله نامناسب (بدون درپوش ، لوله شیشه ای)
- 11-7) نگهداری و انتقال در دمای نامناسب

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

- آدرس: تهران- خیابان 12 فروردین- انستیتو پاستور ایران
- تلفکس: 02164112821