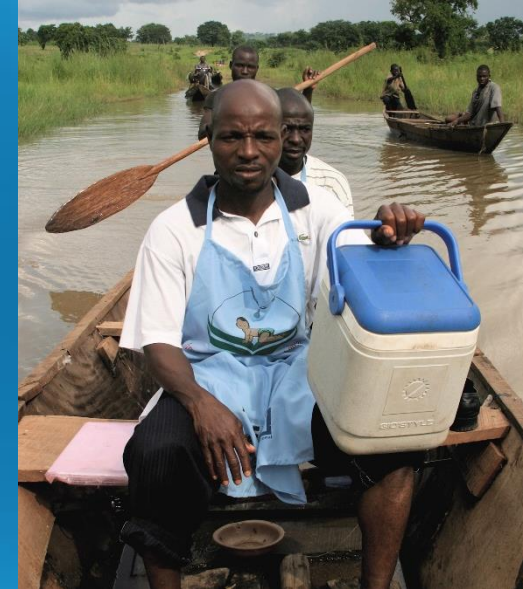


Module 2. Clinical diagnosis, surveillance and laboratory investigation

Unit B. Specimen collection & transport

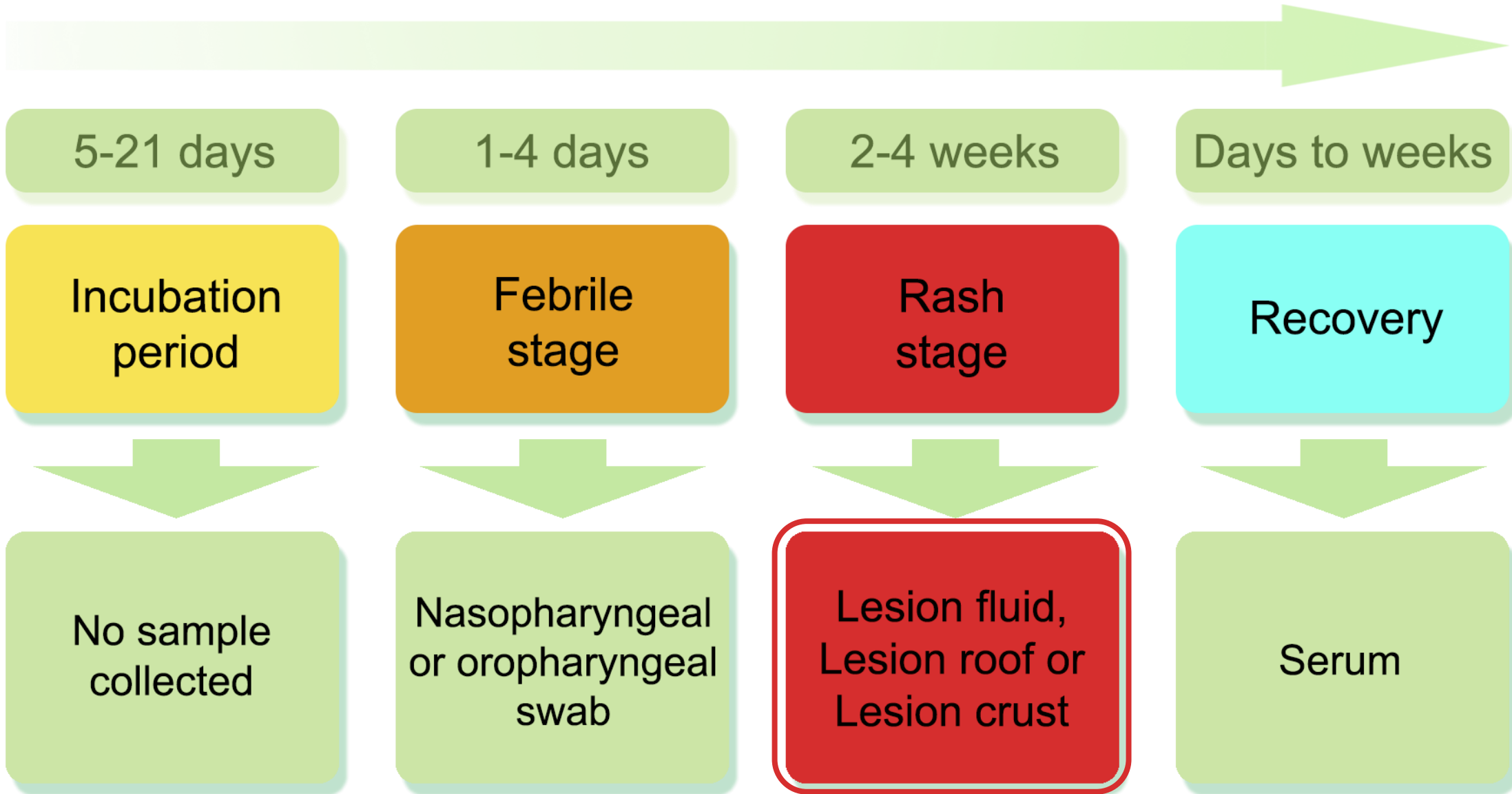


World Health
Organization



By the end of this unit...

- ✓ List specimens appropriate for monkeypox diagnosis
- ✓ Explain how specimens are collected
- ✓ Describe how specimens are stored, packaged, and transported



- **IPC = Infection Prevention and Control**
 - Personal protective equipment (PPE)
 - Hand hygiene
 - Environmental decontamination



- Prepare labels in advance with the
 - patient's name
 - case or surveillance number
 - place of origin
 - date of sampling, and
 - type of specimen.
- Cross-check that information on tubes and **case investigation forms** match





Dry polyester
transport
swabs

OR



Dry swab

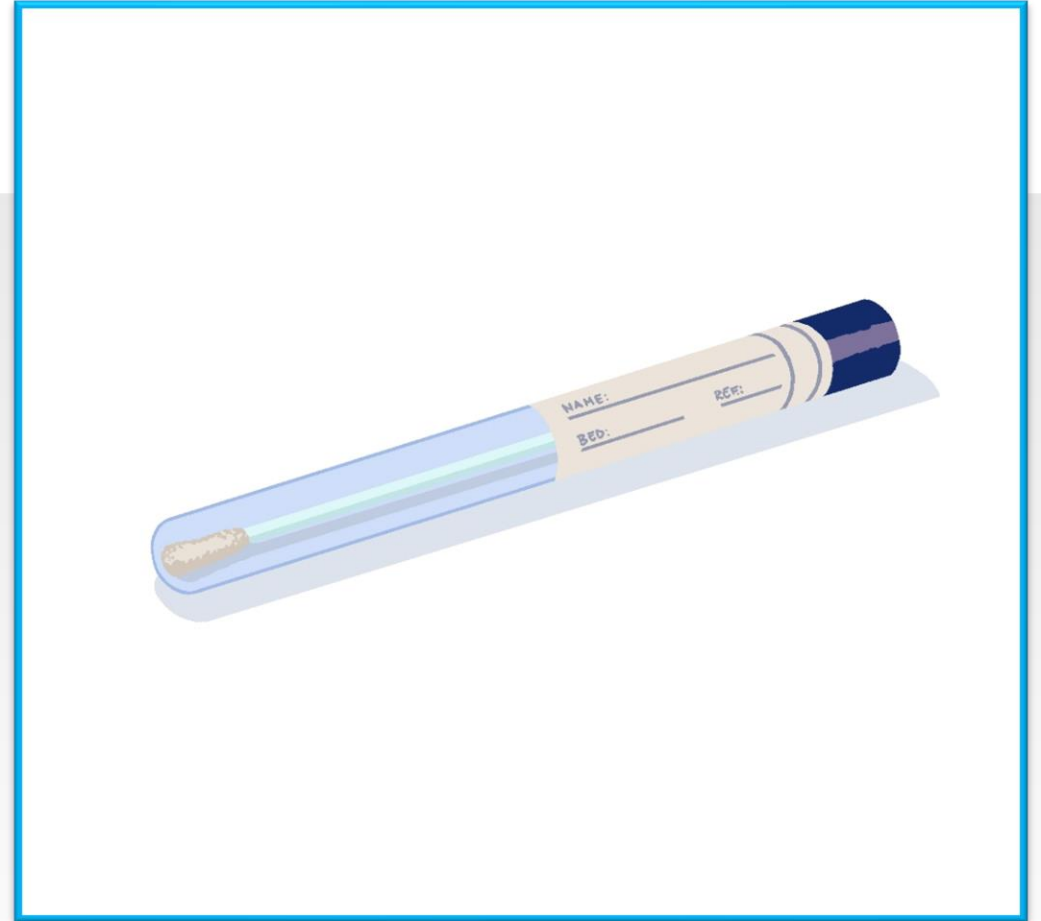
+



Screw-
capped
plastic tube
with O-ring



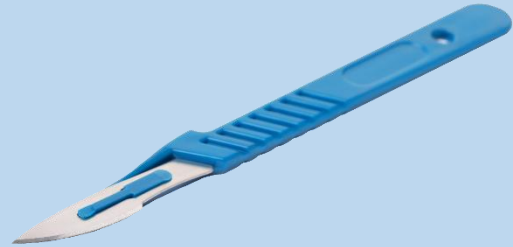
Brush tissue



Put swab in
container



Alcohol wipe



Disposable
scalpel or
plastic
scraper



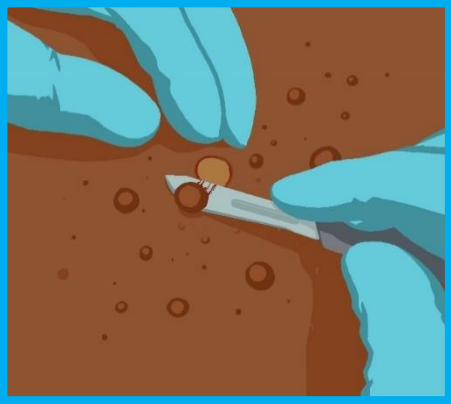
Dry polyester
transport
swabs



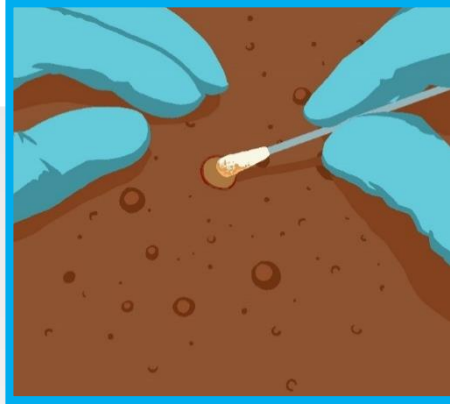
Screw-
capped
plastic tube
with O-ring



Sanitize lesions



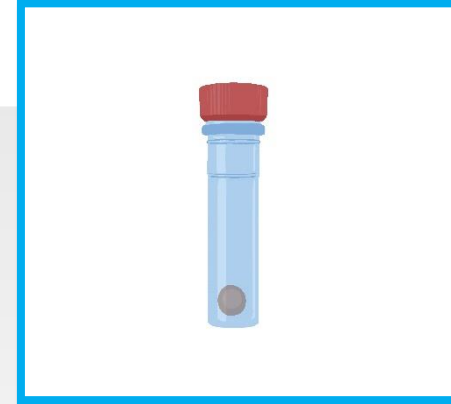
Remove
lesion roof



Brush
lesion base



Put swab in
container



Put roof in
container



Alcohol wipe



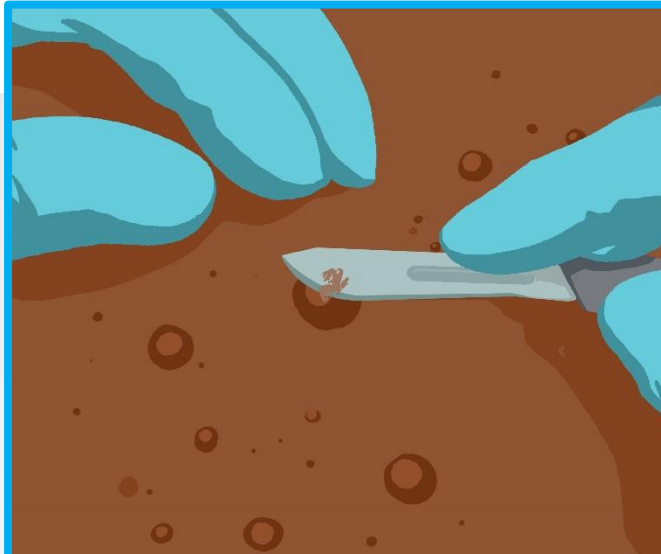
**Sterile scalpel,
lancet, plastic
scraper, curette
or needle**



**Screw-capped
plastic tube
with O-ring**



Sanitize lesions



Remove crusts



Put crust in
container



Alcohol wipe



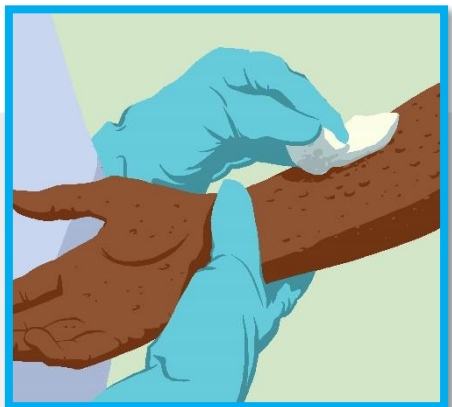
**Sterile
Syringe and
needle**



**Serum
separator
tubes**



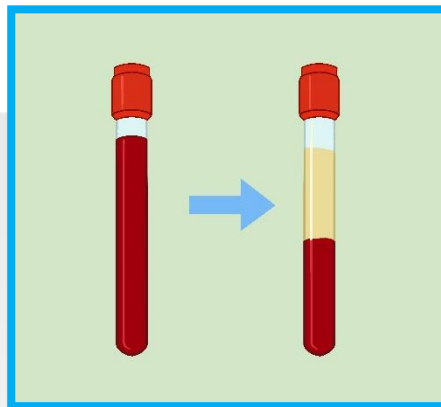
**Screw-
capped
plastic tube
with O-ring**



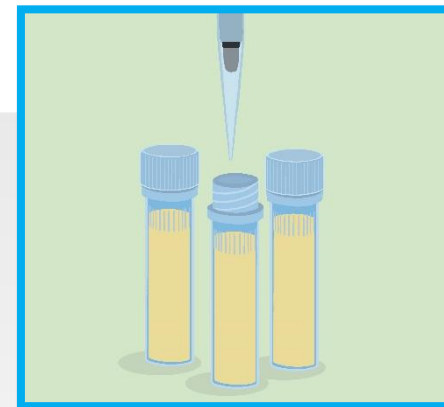
Sanitize collection area



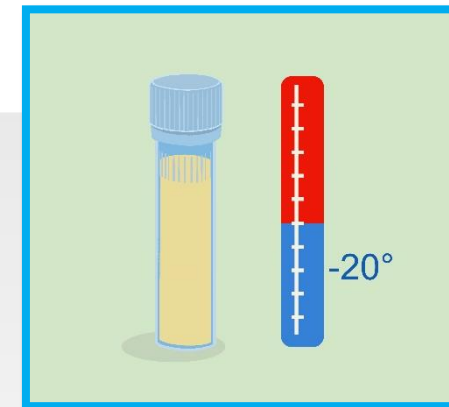
Draw blood



Allow to clot and centrifuge

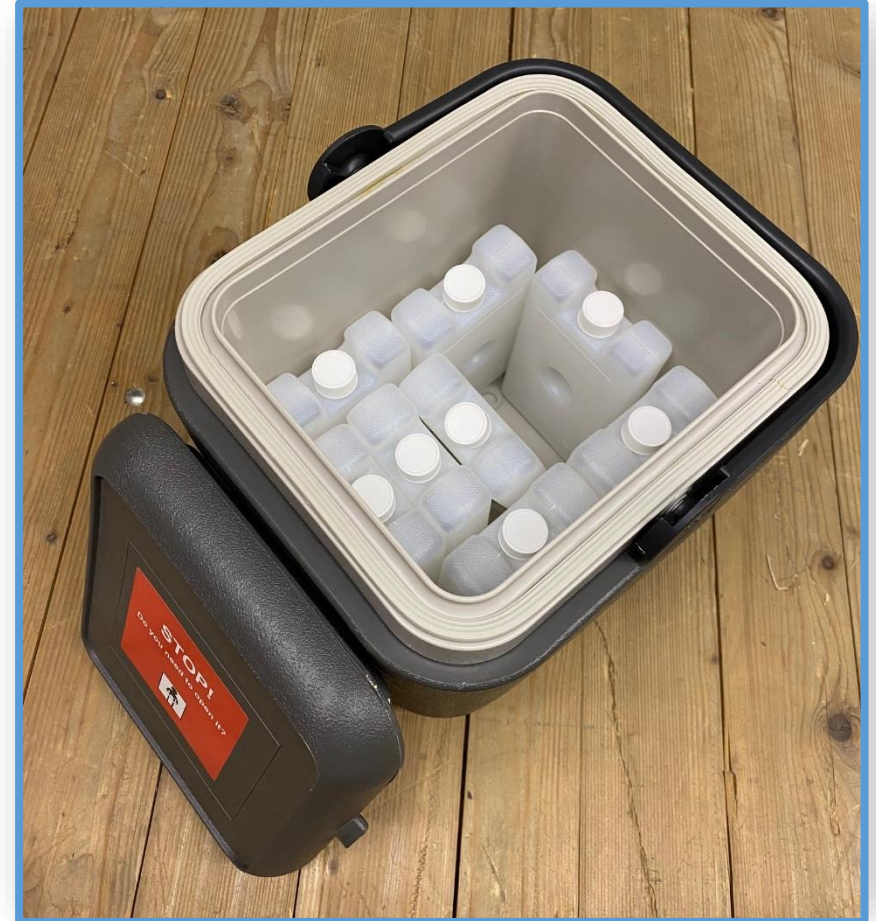


Transfer serum into vials



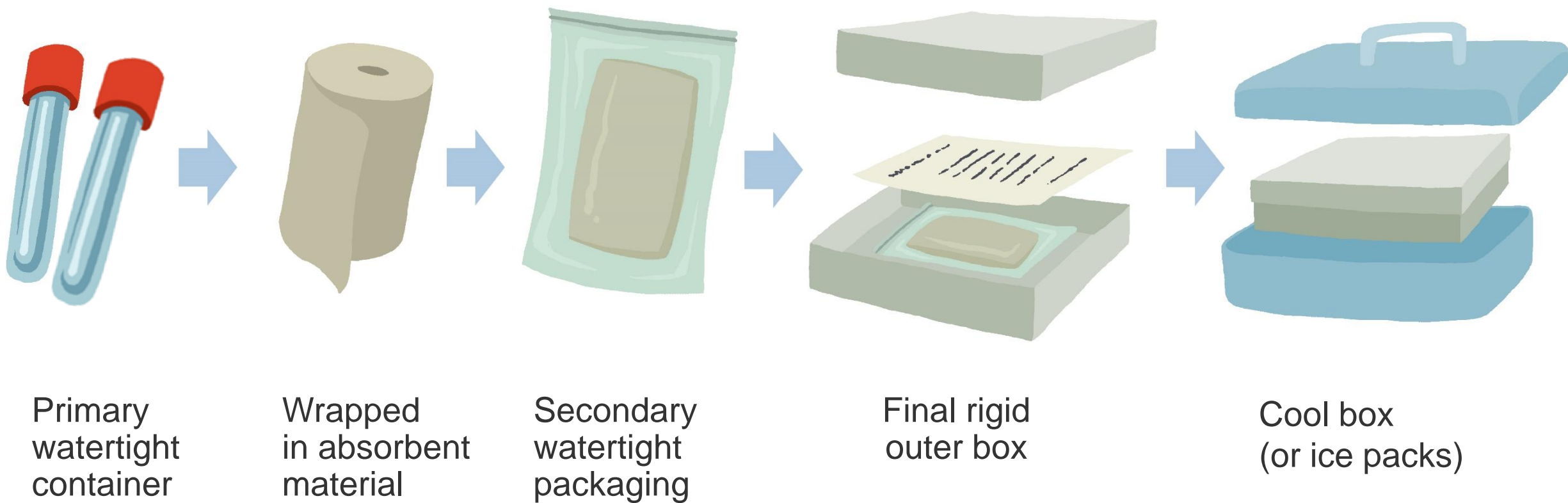
Store tube at -20°C

- Keep specimens **cold** (+4°C) during transport
- Store in a **freezer** (-20 °C) or reliable **refrigerator** with daily temperature monitoring
- Store separately from **vaccines, medicine and food**

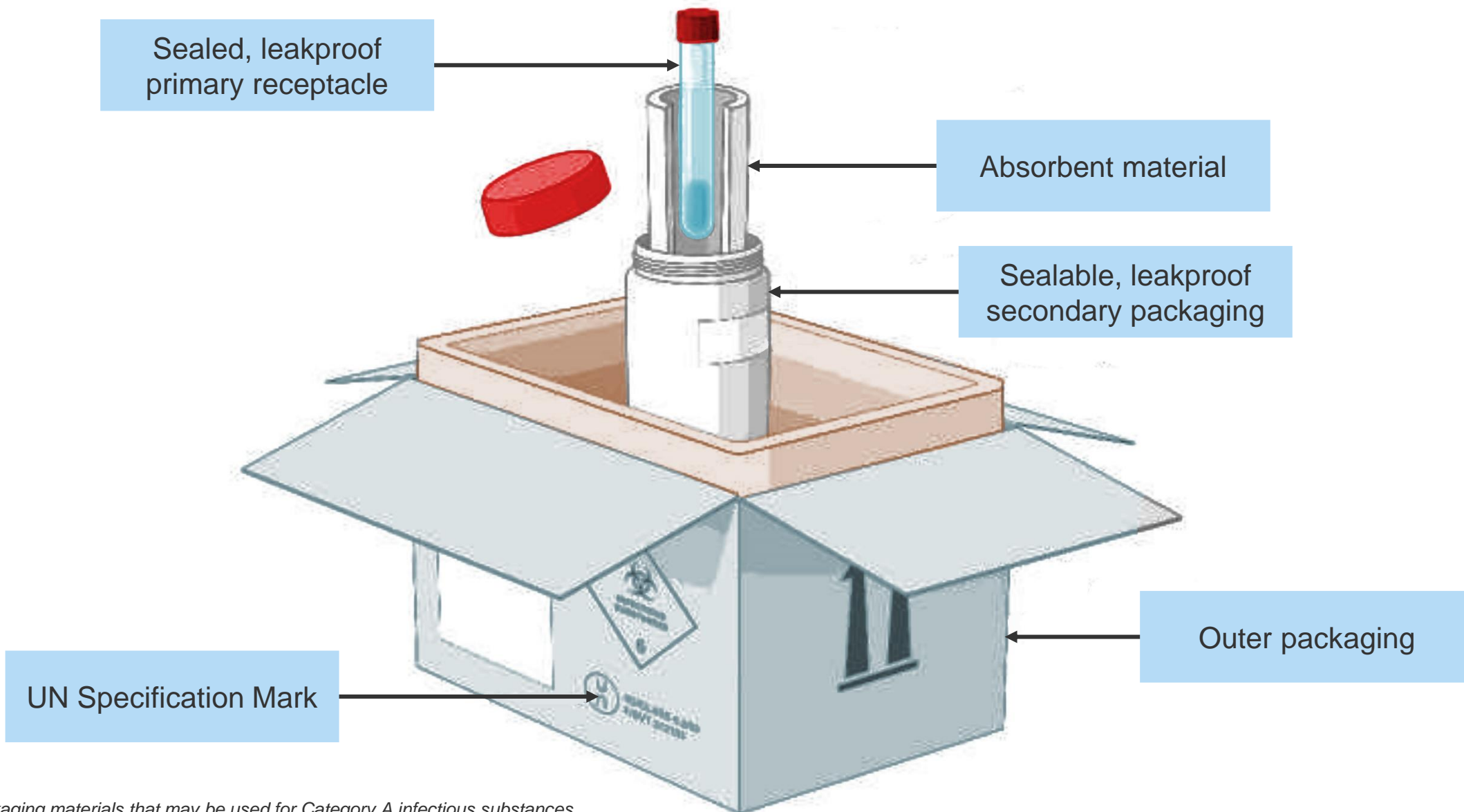


WHO/C. Pontlevoy

Basic triple packaging system



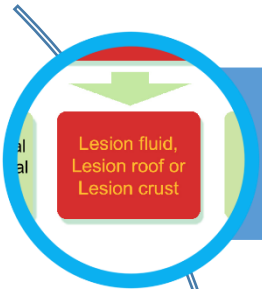
Triple packaging for monkeypox specimens



Example of triple packaging materials that may be used for Category A infectious substances

- In accordance with **national surveillance and laboratory guidelines**
- Using the **fastest mode of transport**
- With **trained drivers or riders**
- Temperature: at **4°C**





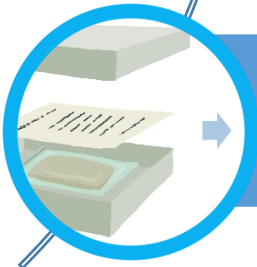
Which specimens to collect



How to collect specimens



IPC for specimen collection



Specimen packaging and transport

- WHO - Guidelines for the collection of clinical specimens during field investigation of outbreaks: [link](#)
- WHO - Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2021-2022: applicable as from 1 January 2021: [link](#)
- WHO - How to safely ship human blood samples from suspected Ebola or Marburg cases within a country by road, rail and sea-interim guidance: [link](#)
- WHO - Health Security Learning Platform (EISST) - Infectious substances shipping training: [link](#)

آبله میمونی



آبله میمونی یک بیماری نادر است که توسط monkeypox virus از دسته اورتوپاکس ویروس از خانواده Poxviridae ایجاد می شود، (ویروس های مولد آبله ، آبله گاوی و واکسینیا نیز در این دسته قرار می گیرند).

اولین بار در سال 1958 دو مورد ابتلا در میمون های مراکز تحقیقاتی دیده شد و اولین مورد ابتلا انسانی در سال 1970 در کنگو گزارش شده است. از آن پس در کشورهای افریقای مرکزی و غربی نظیر کامرون، لیبریا، کوته دیور، گابن، نیجریه و سیرالئون گزارش شده است.

رخداد این بیماری در خارج از افریقا ناشی از مسافرت های بین المللی یا حیوانات وارداتی ایجاد شده و در کشورهای نظیر امریکا، اسرائیل، سنگاپور و انگلستان گزارش شده است.

مخزن طبیعی بیماری ناشناخته است ولی احتمالاً جوندگان افریقایی و میمون ها مخزن هستند.

اردیبهشت 1401:

خوشه های متعدد آبله میمونی در کشورهای مختلفی از جمله استرالیا ، اروپا نظیر انگلستان، ایتالیا، پرتغال، اسپانیا، سوئد، فرانسه، بلژیک، آلمان، کانادا و امریکا که بطور معمول بیماری را گزارش نمی کردند، دیده شده است.

مشخص نیست که این خوشه ها چگونه در تماس با آبله میمونی قرار گرفته اند ولی در بین آنها مردان همجنس گرا (گزارش انگلستان) قرار دارند. CDC امریکا اعلام خطر کرده که بیمارانی که دچار بثورات جلدی متناسب با آبله میمونی شده باشند، بدون توجه به سابقه مسافرت یا زمینه های خطر برای این بیماری، جنسیت و رفتاری های جنسی، باید گزارش و پیگیری شوند.

در طی رخداد اخیر، تاکنون در 11 کشور این بیماری گزارش شده است

علائم و یافته های بالینی:

معمولا بیماری شدید نیست. علائم آبله میمونی در انسانها شبیه آبله، اما اندکی خفیف تر است. شروع علائم با تب، سردرد، درد عضلانی و خستگی مفرط است. مهمترین تفاوت بین آبله و آبله میمونی در بروز لنفادنوپاتی در نوع میمونی است. دوره کمون 7-14 روز می باشد ولی از 5 روز تا 21 روز گزارش شده است.

بیماری با علائم زیر شروع می شود:

- تب
- سردرد
- درد عضلانی
- کمردرد
- تورم غدد لنفاوی
- لرز
- خستگی شدید

در طی 1-3 روز (و گاهی طولانی تر) پس از بروز تب، بثورات جلدی عارض می شود و اغلب از صورت شروع شده و پس از آن در نقاط مختلف بدن منتشر می شود

ضایعات جلدی پیشرفت کرده و بصورت زیر تظاهر می کند:

- ماکول
- پاپول
- وزیکول
- پوستول
- دلمه ها

بیماری عموماً 2-4 هفته طول می کشد. در افریقا میزان مرگ و میر این بیماری تا 10٪ بوده است ولی این اطلاعات نیاز به بررسی های جدید دارد

انتقال بیماری:

عموما بدنبال تماس فرد با ویروس مترشح از یک حیوان، انسان یا وسایل آلوده به ترشحات رخ می دهد. انتقال ویروس از طریق پوست آسیب دیده (حتی آسیب های بسیار جزئی)، ترشحات تنفسی یا تماس مخاطی (چشم، بینی، یا دهان) صورت می گیرد. انتقال حیوان به انسان ممکن است از طریق گازگرفتگی ها یا خراشیدگی (چنگ زدن)، سلاخی و کار با گوشت خام، تماس با ترشحات بدن، تماس غیرمستقیم با ضایعات مانند بسترهای آلوده رخ می دهد.

انتقال از انسان به انسان عمدتا تنفسی است. انتقال از طریق قطرات درشت تنفسی است که عموما تا مسافت طولانی منتقل نمی شوند. بنابراین تماس نزدیک و چهره به چهره برای انتقال ویروس ضروری است. انتقال غیر مستقیم از طریق تماس با وسایل آلوده (لباس ها و ...) به ترشحات انسانی هم وجود دارد.

پیشگیری:

برخی اقدامات می تواند در کاهش انتقال مؤثر باشد نظیر:

- خودداری از تماس با حیواناتی که بالقوه می توانند باعث انتقال بیماری شوند (حیوانات علامتدار یا مرده در مناطقی که بیماری گزارش شده است)
- خودداری از تماس با موادی مانند ملافه که با حیوان بیمار تماس داشته است
- جداسازی بیمار مبتلا از سایرین
- رعایت بهداشت دست پس از تماس با افراد، حیوانات یا وسایل آلوده (شستشوی دستها با آب و صابون یا استفاده از ضد عفونی کننده های با پایه الکل)
- استفاده از تجهیزات حفاظت شخصی در تماس با بیماران مبتلا

JYNNEOS™ (Imvamune or Imvanex) یک واکسن زنده ضعیف شده است که توسط FDA امریکا برای پیشگیری از آبله میمونی تأییدیه گرفته ولی برای استفاده در افراد در معرض ابتلا به ویروس، در حال بررسی است

درمان:

در حال حاضر این بیماری درمان اختصاصی ندارد.

برای کنترل بیماری استفاده از واکسن آبله، ضد ویروس هایی چون Cidofovir ، Brincidifovir ، Tecovirimat (ST-246) ، و ایمونوگلوبین واکسینیا (VIG) توصیه شده است

اساسا اقدامات در بین پزشکان و پرسنل آزمایشگاهی باید در جهت آشنایی با علائم بیماری، شناسایی موارد و گزارش دهی، جداسازی و پیشگیری از تماس و انتقال بیماری می باشد

منبع:

Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID), Division of High-Consequence Pathogens and Pathology (DHCPP), May 19, 2022

تشخیص آزمایشگاهی

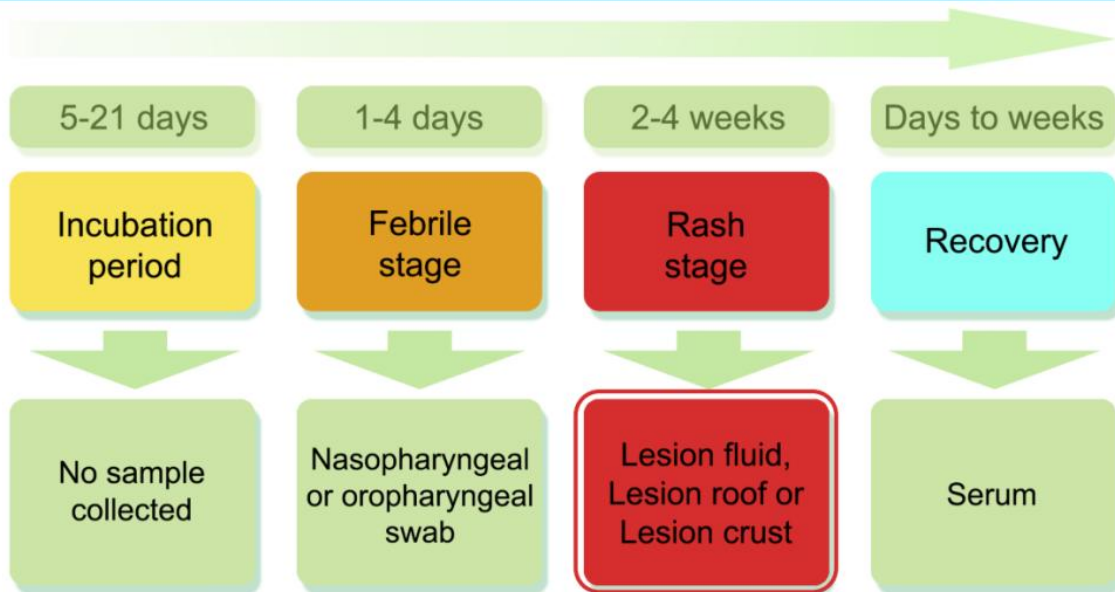
اگرچه تشخیص بالینی آبله میمونی اولین قدم در شناسایی موارد بیماری است با این وجود تشخیص قطعی موارد تنها با تأیید آزمایشگاهی انجام می شود. تست های تشخیص آزمایشگاهی آبله میمونی عبارتند از:

- شناسایی ژنوم ویروس با استفاده از PCR
- کشت و جداسازی ویروس در کشت سلول
- شناسایی آنتی ژن ویروس
- شناسایی آنتی بادی ویروس

تشخیص آزمایشگاهی روتین موارد حاد عفونت با ویروس آبله میمونی با استفاده از تست PCR انجام می شود و بهترین نمونه برای شناسایی ژنوم ویروس ضایعات پوستی (سواب ترشحات ضایعات پوستی یا پوسته کراست) می باشد.

نوع نمونه و نمونه گیری:

- نمونه های تشخیصی با توجه دوره بیماری عبارتند از (شکل ۱):



شکل ۱: نوع نمونه مناسب برای تشخیص آزمایشگاهی بر اساس دوره بیماری

۱- سوآب اوروفارنکس و نازوفارنکس در فاز تب دار بیماری و قبل از شروع بثورات پوستی (راش).

- نمونه های سوآب تهیه شده باید در فالكون استریل و خشک (بدون محیط انتقال ویروسی یا VTM) قرار داده شود.
- بر روی فالكون قبل از نمونه گیری مشخصات بیمار از جمله نام بیمار، تاریخ نمونه گیری و نوع نمونه قید شود.



Dry polyester transport swabs

OR



Dry swab

+



Screw-capped plastic tube with O-ring



Brush tissue



Put swab in container

شکل ۲: وسایل مورد نیاز و روش تهیه نمونه سواب تنفسی

۲- نمونه از ضایعات پوستی پس از بروز بثورات که عبارتند از (شکل ۳):

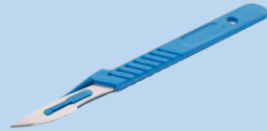
- سوآب از مایع داخل وزیکول یا پوسچول Vesicule یا Pustule (vesicular/pustular fluid) و پوسته رویی ضایعات (Lesion Roof).
- نمونه سوآب ترشحات در فالکون و نمونه پوسته روی ضایعه در یک کرایوتیوب در پیچ دار قرار داده شود. لازم به ذکر است فالکون و کرایوتیوب باید خشک و فاقد هر گونه ماده نگهدارنده و یا محیط انتقال ویروس (VTM) باشد.
- قبل از نمونه گیری مشخصات بیمار از جمله نام بیمار، تاریخ نمونه گیری و نوع نمونه بر روی فالکون و کرایوتیوب قید شود.
- برای افزایش احتمال شناسایی ویروس حداقل ۲ نمونه، هر کدام از یک ضایعه جداگانه با استفاده از سوآب های مجزا تهیه شود.
- در تهیه سوآب ترشحات، اطمینان حاصل شود که نوک سوآب کاملا آغشته به ترشحات باشد. به عبارت دیگر ترشحات باید روی سوآب قابل مشاهده باشد.
- 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 سوآب به کف ضایعه طوری مالیده شود تا اطمینان حاصل شود مواد سلولی به میزان کافی از کف آن برداشته شده است. پس از نمونه برداری سوآب ها در داخل فالکون قرار داده شود.

۳- سرم (پس از هماهنگی با آزمایشگاه مرجع کشوری جمع آوری گردد)

Lesion roofs and fluid – consumables



Alcohol wipe



Disposable scalpel or plastic scraper



Dry polyester transport swabs



Screw-capped plastic tube with O-ring

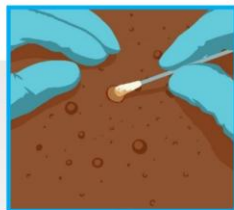
Lesion roofs and fluid – procedure



Sanitize lesions



Remove lesion roof



Brush lesion base



Put swab in container



Put roof in container

شکل ۳: وسایل مورد نیاز و روش تهیه سوآب از کف ضایعات وزیکولر و مایعات درون آنها

● پوسته های خشک (دلمه) (Lesion crusts)

- با احتیاط و پس از ضد عفونی ضایعه پوسته را با تیغ جراحی استریل برداشته و در داخل ویال کرایو در پیچدار استریل قرار دهید. لازم به ذکر است فالکون و کرایوتیوب باید خشک و فاقد هر گونه ماده نگهدارنده و یا محیط انتقال ویروس (VTM) باشد.



Lesion crusts – consumables



Alcohol wipe



Sterile scalpel, lancet, plastic scraper, curette or needle



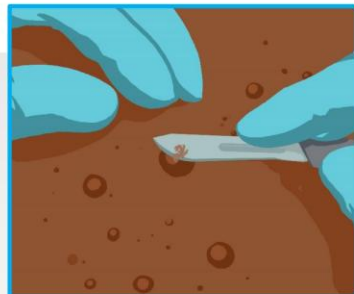
Screw-capped plastic tube with O-ring



Lesion crusts – procedure



Sanitize lesions



Remove crusts



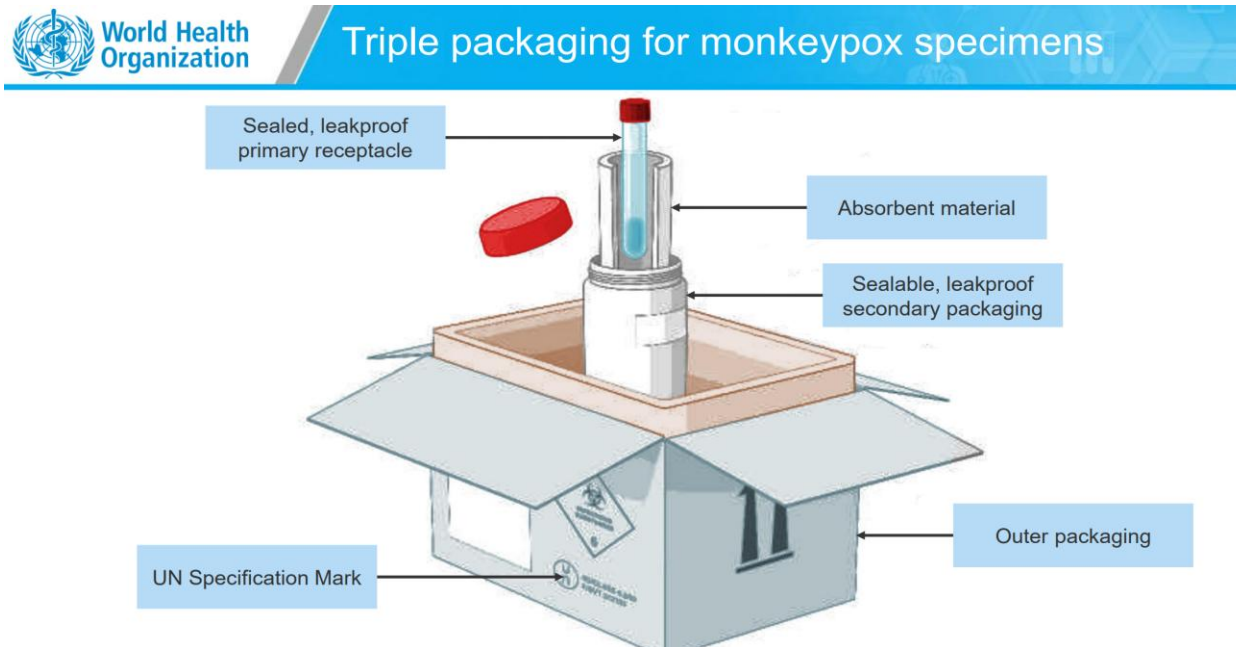
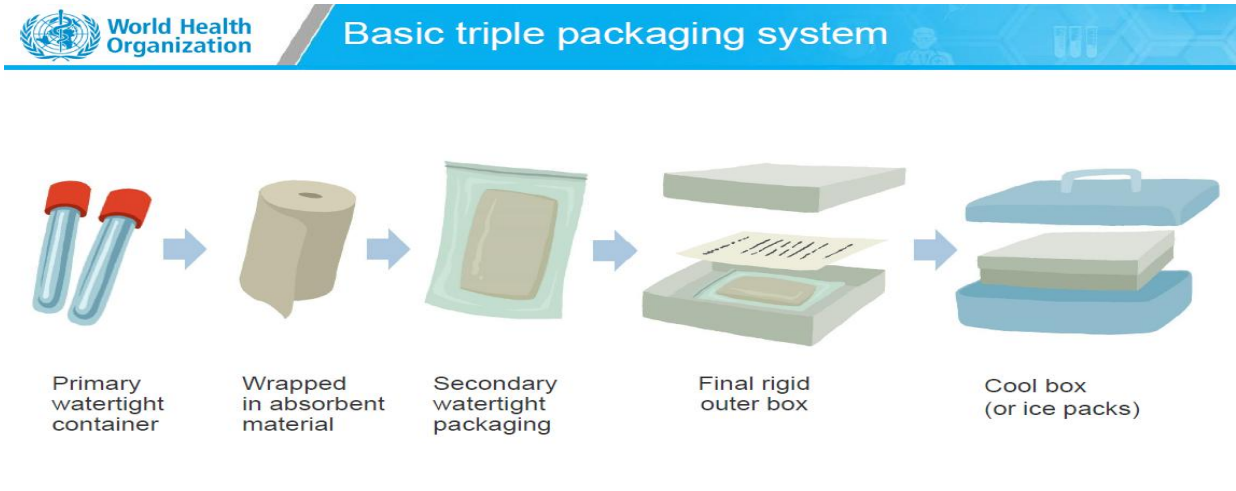
Put crust in container

شکل ۴: وسایل مورد نیاز و روش تهیه نمونه پوسته های خشک (کراست)

بسته بندی و انتقال نمونه:

برای بسته بندی و ارسال نمونه می بایست از ظروف ۳ لایه مخصوص نمونه های عفونی (شکل ۵) استفاده نمود.

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



شکل ۵: محفظه استاندارد ۳ لایه برای بسته بندی و انتقال نمونه های عفونی

نگهداری نمونه: نمونه ها در اسرع وقت باید به آزمایشگاه ارسال شود. در غیر این صورت نمونه ها را می توان دردمای ۲۰- سانتی گراد و یا ۷۰- درجه سانتیگراد نگهداری نمود.

انتقال امن و ایمن نمونه

- قبل از انتقال نمونه باید آزمایشگاه مرجع کشوری بیماری (انستیتو پاستور ایران به شماره تماس ۰۲۱۶۴۱۱۲۵۴۲) از ارسال نمونه مطلع گردد.
- 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.

روش استاندارد بسته بندی نمونه ها :

- باید توجه داشت که جهت بسته بندی و انتقال نمونه، باید از سیستم سه لایه ای استاندارد استفاده کرد.
- ترجیحاً از دو دستکش که روی هم پوشیده شده، استفاده می کنیم.
- اطراف لوله را جهت رفع آلودگی احتمالی با ماده گندزدای مناسب مانند محلول سفید کننده خانگی با رقت ۱۰٪ گندزدایی می کنیم. محل اتصال درلوله حاوی نمونه و بدنه را با پارافیلیم می بندیم . ماده جاذب و ضربه گیر مانند حوله کاغذی و یا دستمال های جاذب را با توجه به حجم مایع، به طور کامل دور آن می پیچیم.
- سپس آن را داخل زیپ کیپ با کیفیت کوچک قرار می دهیم.
- زیپ کیپ را داخل لوله فالكون در پیچ دار مقاوم قرار می دهیم که جمعا محفظه اولیه را تشکیل می دهد .
- دستکش رویی را بدین صورت در می آوریم 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 می داریم. 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 داشته ایم، بر می گردانیم و با نوک انگشت دست چپ قسمت داخلی دستکش را گرفته و در کیسه مخصوص جمع آوری پسماند عفونی می اندازیم.

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