



مرکز تحقیقات ویروس شناسی بالینی

باسمه تعالی



شبکه تحقیقات بیماری‌های ویروسی ایران

شماره SOP: BS-II	
عنوان SOP: نحوه نمونه‌گیری و انتقال نمونه‌ها برای تشخیص ویروس کورونا	ویرایش: اول
تهیه کننده: کارگروه بیماری‌های تنفسی	تاریخ: اسفند ۱۳۹۸
تعداد صفحات: ۵	شماره صفحه: ۱ از ۵

روش عملیاتی استاندارد (SOP) Standard Operating Procedure

نحوه نمونه‌گیری و انتقال نمونه‌ها برای تشخیص ویروس کورونا

این متدولوژی با کوشش کارگروه ویروس‌های تنفسی و تحت نظارت شبکه بیماری‌های ویروسی ایران و انجمن ویروس شناسی ایران تهیه و تدوین گردیده است. این SOP با استفاده از آخرین دست آوردهای میکروبیولوژی مولکولی که در آزمایشگاه‌های کشورهای پیشرفته در حال انجام می باشد اقتباس گردیده است.

نحوه نمونه‌گیری

بعد از گرفتن سواب نازوفارنژیال، بینی یا گلو، می‌توان آن را در لوله محتوی ماده نگهدارنده که (Viral (VTM Transport Medium و یا Universal Transport Medium (UTM نام دارد قرار داد و بعد از چند بار تکان دادن سواب داکرون یا پلی استر (سواب پنبه‌ای PCR inhibitor می‌باشد) در ته لوله، سواب را از نقطه Break point شکسته و آن را در داخل لوله باقی گذارده و درب لوله را بسته و به آزمایشگاه ارسال نمایید. در صورت وجود ماده نگهدارنده، نگرانی برای رعایت زنجیره سرد (۴ تا ۸ درجه) برای حفظ و انتقال نمونه نمی‌باشد. لیکن در شرایط فقدان وجود چنین مایعی، می‌توان از ۱ میلی لیتر نرمال سالین سرد استفاده نمود (در هر صورت استفاده از سواب داکرون یا پلی استر الزامی است). بهتر است در محل‌های نمونه‌گیری، از لوله‌های پلاستیکی که حاوی ۱ میلی لیتر نرمال سالین بوده و در یخچال نگهداری شده‌اند، استفاده گردد. در صورت چنین شرایطی حتماً باید این لوله‌های محتوی نمونه توسط Ice pack و یا در Cool box بسته به شرایط موجود به آزمایشگاه منتقل گردند. در صورت عدم امکان ارسال نمونه‌های نازوفارنژیال و اوروفارنژیال به آزمایشگاه می‌توان نمونه را به مدت ۵ روز در دمای یخچال و

برای زمان‌های طولانی‌تر در دمای فریز ۷۰- نگهداری کرد. برای نمونه‌های خلط، BAL و آسپیره تراکتال برای ۴۸ ساعت در دمای یخچال و برای زمان‌های طولانی‌تر دمای ۷۰- می‌بایست نمونه نگهداری شود. در جدول زیر مهمترین نمونه‌ها و وسایل لازم برای نمونه برداری و شرایط نگهداری نمونه‌ها و حمل به آزمایشگاه و ملاحظات لازم نشان داده شده است.

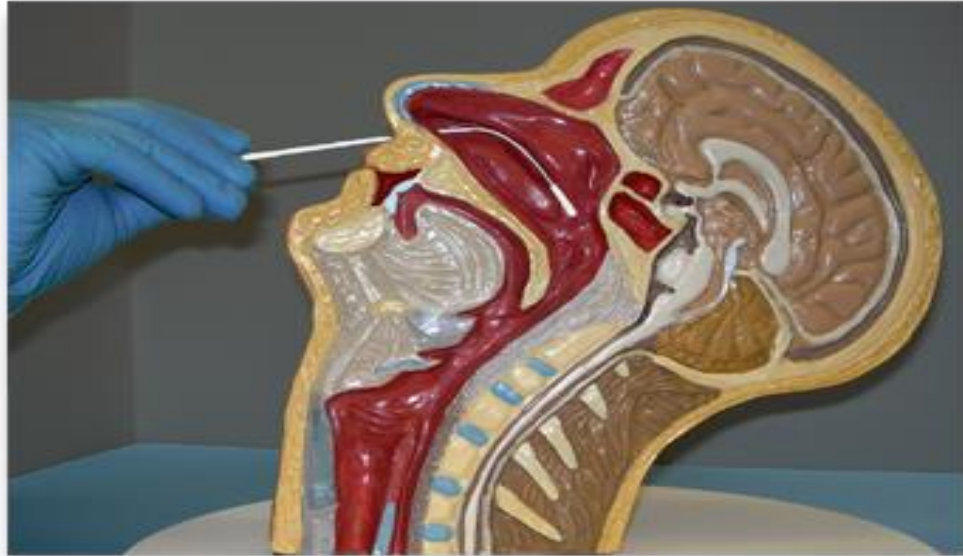
روش تهیه نمونه و نمونه‌گیری نازو فارنژیال

* برای این کار به سواب مخصوص که نازک‌تر و قابل انعطاف‌تر می‌باشد، نیاز است.

* سواب با دقت از طریق بینی وارد نازوفارنکس خلفی شود. دقت شود که سواب با کف بینی موازی بوده و رو به بالا نباشد چند ثانیه در محل نگه دارید تا ترشحات را جذب کند و سپس به آرامی سواب را خارج کنید.

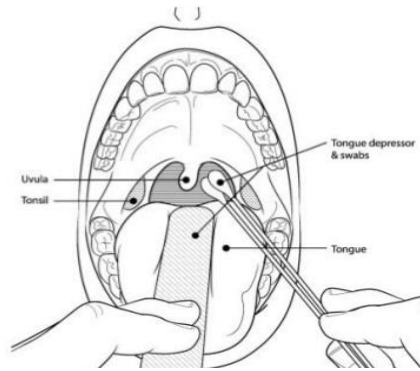
* سواب درون محیط انتقالی قرار گیرد و چند بار در درون محیط ترانسپورت آنرا بچرخانید. همین کار در حفره دیگر بینی با همان سواب تکرار شود.

* سواب را داخل لوله قرار داده، سپس آن را شکسته و در لوله را محکم ببندید.



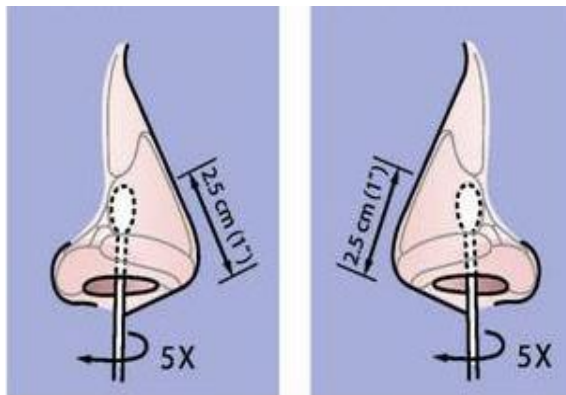
سواب گلو

* در حالی که زبان را پایین نگه داشته، سواب را بر بخش خلفی حفره گلو ۲ تا ۳ بار کشیده شود. دقت شود که سواب با لبها، زبان، لوزه‌ها و یا جای دیگری تماس پیدا نکند.



سواب بینی

- * سواب مخصوص تا جایی که امکان دارد در داخل بینی قرار داده شود (حدود ۲/۵ سانتی متر).
- * سواب ۵ بار به چپ و ۵ بار به راست چرخانده شود تا با مخاط بینی تماس کافی داشته باشد.
- * در صورت لزوم همین کار با یک سواب استریل دیگر در طرف دیگر تکرار شود.
- * سواب را داخل لوله قرار داده، سپس آن را شکسته و درب لوله را محکم ببندید.



Specimen type	Collection materials	Transport to laboratory	Storage till testing	Comment
Nasopharyngeal and oropharyngeal swab	Dacron or polyester flocked swabs*	4 °C	≤5 days: 4 °C >5 days: -70 °C	The nasopharyngeal and oropharyngeal swabs should be placed in the same tube to increase the viral load.
Bronchoalveolar lavage	sterile container *	4 °C	≤48 hours: 4 °C >48 hours: -70 °C	There may be some dilution of pathogen, but still a worthwhile specimen
(Endo)tracheal aspirate, nasopharyngeal aspirate or nasal wash	sterile container *	4 °C	≤48 hours: 4 °C >48 hours: -70 °C	
Sputum	sterile container	4 °C	≤48 hours: 4 °C >48 hours: -70 °C	Ensure the material is from the lower respiratory tract
Tissue from biopsy or autopsy including from lung	sterile container with saline	4 °C	≤24 hours: 4 °C >24 hours: -70 °C	
Serum (2 samples acute and convalescent possibly 2-4 weeks after acute phase)	Serum separator tubes (adults: collect 3-5 ml whole blood)	4 °C	≤5 days: 4 °C >5 days: -70 °C	Collect paired samples: • acute – first week of illness • convalescent – 2 to 3 weeks later
Whole blood	collection tube	4 °C	≤5 days: 4 °C >5 days: -70 °C	For antigen detection particularly in the first week of illness
Urine	urine collection container	4 °C	≤5 days: 4 °C >5 days: -70 °C	

*For transport of samples for viral detection, use VTM (viral transport medium) containing antifungal and antibiotic supplements. For bacterial or fungal culture, transport dry or in a very small amount of sterile water. Avoid repeated freezing and thawing of specimens.

Aside from specific collection materials indicated in the table also assure other materials and equipment are available: e.g. transport containers and specimen collection bags and packaging, coolers and cold packs or dry ice, sterile blood-drawing equipment (e.g. needles, syringes and tubes), labels and permanent markers, PPE, materials for decontamination of surfaces.

منابع

۱. C Moore, S Corden, J Sinha, R Jones. Dry cotton or flocked respiratory swabs as a simple collection technique for the molecular detection of respiratory viruses using real-time NASBA. *J of Virol Methods* ۱۵۳ (۲۰۰۸) ۸۴-۸۹.
۲. Boixeda R, Rabella N, Sauca G, Delgado M, Martínez-Costa X, Mauri M, Vicente V, Palomera E, Serra-Prat M, Capdevila JA. Microbiological study of patients hospitalized for acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AE-COPD) and the usefulness of analytical and clinical parameters in its identification (VIRAE study). *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. ۲۰۱۲; ۷:۳۲۷-۳۵.
۳. Debyle C^۱, Bulkow L, Miernyk K, Chikoyak L, Hummel KB, Hennessy T, Singleton. Comparison of nasopharyngeal flocked swabs and nasopharyngeal wash collection methods for respiratory virus detection in hospitalized children using real-time polymerase chain reaction. *J Virol Methods*. ۲۰۱۲ Oct; ۱۸۵(۱):۸۹-۹۳.
۴. Falsey AR, Formica MA, Walsh EE. Yield of sputum for viral detection by reverse transcriptase PCR in adults hospitalized with respiratory illness. *J Clin Microbiol*. ۲۰۱۲ Jan; ۵۰(۱):۲۱-۴.
۵. Bartlett JG. Diagnostic tests for agents of community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis*. ۲۰۱۱ May; ۵۲ Suppl ۴:S۲۹۶-۳۰۴.
۶. Pongthanapisith V, Sukasem C, Premchaiporn K, Srichantaratsamee C, Chantratita W. Clinical performance of three rapid diagnostic tests for influenza virus in nasopharyngeal specimens to detect novel swine-origin influenza viruses. *Infection*. ۲۰۱۱ Apr; ۳۹(۲):۱۰۵-۱۱.
۷. Piralla A, Giardina F, Rovida F, Campanini G, Baldanti F. Cellular DNA quantification in respiratory samples for the normalization of viral load: a real need? *J Clin Virol*. ۲۰۱۸ Oct; ۱۰۷:۶-۱۰.

تهیه و تدوین:

مرکز تحقیقات ویروس شناسی بالینی

شبکه تحقیقات بیماری‌های ویروسی ایران

مرکز تحقیقات ویروس شناسی بالینی
آدرس: تهران، بلوار کشاورز، خیابان قدس، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت،
ساختمان نفیسی، طبقه سوم، تلفن: ۰۲۱-۸۸۹۹۲۶۶۰

شبکه تحقیقات بیماری‌های ویروسی ایران
آدرس: تهران، بلوار کشاورز، خیابان قدس، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت،
ساختمان نفیسی، طبقه سوم، تلفن: ۰۲۱-۸۸۹۹۲۶۶۰