المختبر 3 : جمع ونقل العينات الفيروسية

Collection and transport of viral specimens

ويجب جمع العينة المناسبة بطريقة حذرة واختبارها بالشكل الصحيح لضمان تشخيص وعزل الممرض ولمنع التلوث .

يعتمد جمع العينات على عدة عوامل:

1. فصل السنة: هناك اصابات فيروسية مرتبطة او تزداد في فصل معين دون الاخر مما يسهل التشخيص الصحيح من خلال الحالة السريرية للشخص المصاب.

2.تاريخ المريض: بعض المناطق معروفة اكثر من غيرها باصابات فايروسية معينة مثلا AIDS و Hepatitis و SARS وذلك نظرا لتاريخ المرضى الساكنين فيها.

3.الوبائية في البلد الذي جاءت منه العينة: عند انتشار مرض فيروسي ما في بيئة جغرافية معينة تسجل على انها منطقة موبوءة وبالتالي فان العينة المأخوذة من هذه المنطقة تكون اكثر احتمالا لظهور الاصابة من عينة اخرى لم تسجل وبائية للمرض نفسه، كما ان المرضى القادمين من المناطق الموبوءة هم اكثر احتمالا لحمل الاصابة من القادمين من مناطق لم او قليلة التسجيل لهذه الإصابات.

تعليم العينة

هنالك معلومات مهمة يجب تدوينها قبل الشروع بجمع العينة لاجل تفريقها وتمييزها الواحدة عن الاخرى لغرض اجراء الاختبارات الملائمة:

1.اسم المريض وعمره وجنسه

2.مصدر ونوع وكمية العينة المأخوذة

3.تاريخ جمع العينة

4.تاريخ ظهور اول الاعراض السريرية

5.العلاجات الفيروسية التي يستخدمها المريض

6. طريقة نقل العينة المرضية

المواد اللازمة لجمع العينات

A. وسط النقل الفيروسي viral transport media (VTM)

يستخدم لمنع جفاف العينة ويساعد على الحفاظ على فعالية الفيروس ويعيق نمو الكائنات الحية الملوثة ،خاصة عند استخدام الماسح Swab الخاطئ الذي يعد سام للفيروسات.وهناك انواع مختلفة من وسط النقل،ويتكون غالبا من **بروتين** مثل البومين المصل البقري bovine serum albumin الذي يعطي فعالية للفيروس، و**محلول ملحي** Phosphate buffer saline للسيطرة على الدالة الحامضية pH 7.4 ،ويضاف له غالبا مضادات حيوية لتثبيط نمو البكتيريا والفطريات.وتعقم مواد الوسط بالترشيح ، وغالبا يحتوي انبوب VTM الذي يكون بشكل screw-capped tubes على 2-3 مل من الوسط ، بعض الشركات توفره مع ماسح لجمع العينات.

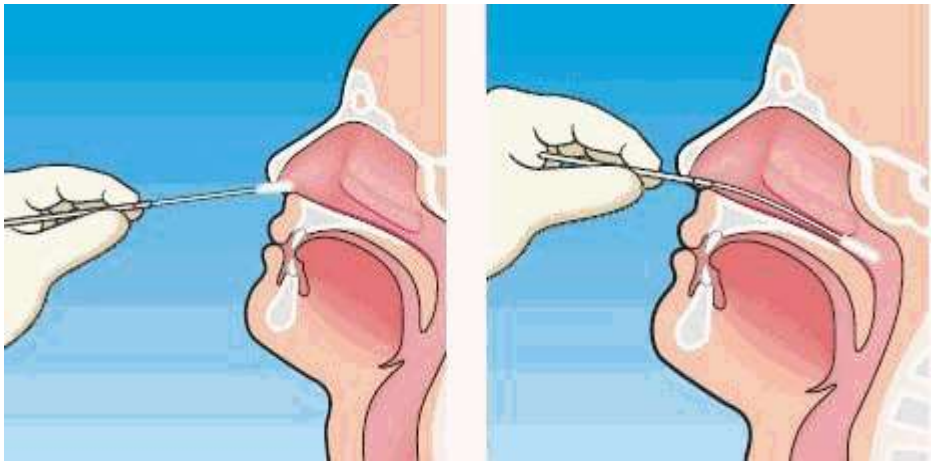
شكل() وسط النقل الفيروسي مع الماسح

B. التجهيزات supplies

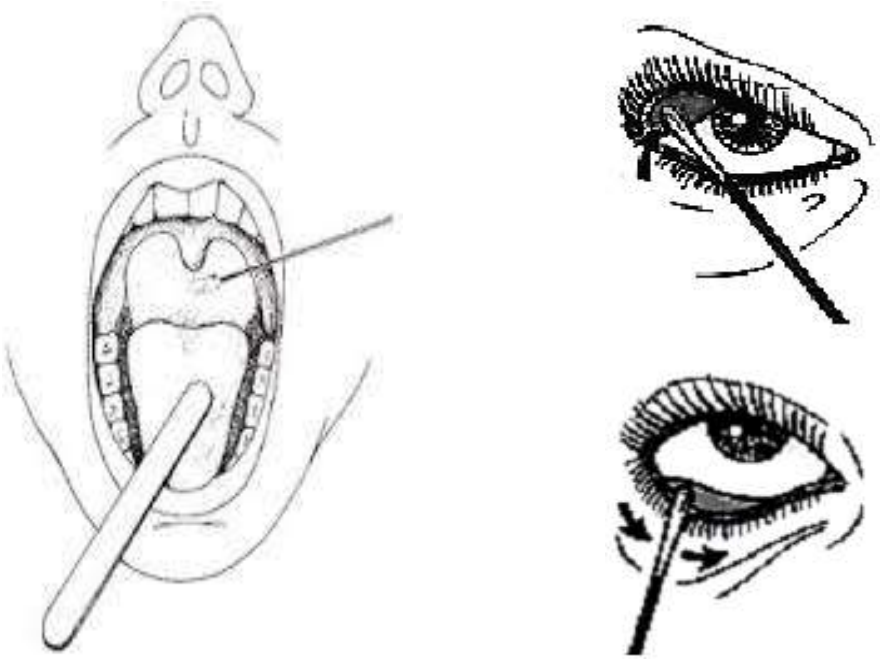
حاويات containers معقمة ، screw cups مثل كأس جمع الادرار Urine cups وأنابيب الطـــــرد المركـــــزي وأنابيـــــب صـــــغيرة مناســـــبة 1-2 مـــــل مـــــن VTM . ماسحات swabs يجب ان تكون قطنية معقمة مع ماسكات بلاستيك أو ألمنيوم مرنـة تستخدم مع بعض العينـات مثـل ماسـحة Urethral swab و Throat swab ،ولا يفضـل اسـتخدام Calcium alginate swabs او Wooden-shafted swabs لانها سامة للفيروسات. ايضـا يجـب تـوفر وحـدة ترشـيح ، انابيـب زجاجيـة ، ملاقـط ، دوارق زرع ، اطبـاق بتـري.حقن Syringes لســـــحب الســـــوائل الجســـــمية مثـــــل الـــــدم وســـــائلCSF . انابيــب جمــع الــدم حاويــة مــادة مانعــة للــتجلط مثــل مــادة Heparin و EDTA . مع بعض المعدات مثل الثلاجة لحفظ العينـات ، جهاز Deep freeze ، جهاز طرد مركزي ، حاضنة ،جهاز تعقيم ،غرفة زرع Microbiological safety cabinet وغيرها.

<u>جمع العينـــات</u>

تجمع العينات مبكرا خلال الطور الحاد او اثناء الاصابة قبل شفاء المريض وقبل تناول اي مضـاد حياتي ،وتقل احتمالية ظهور النتيجة بعد ذلك مع الكثير من الفيروسات، ففيروسات الجهاز التنفسي تشفى خلال 3-7 ايام، وعزل الفيروسات المعوية (Coxsackie, Echovirus) مـن سـائل النخـاع الشـوكي يكـون ضـمن 2-3 ايـام مـن ظهـور الاعـراض علـى الجهـاز العصبي.وايضا يجب جمع العينة المناسبة مع كمية كافية باستخدام الاداة الصحيحة. وتوضع كل عينـة فـي حاويـة منفصلة وتعلم بتسجيل اسم المريض ورقم الملف ومكان أخد العينـة وتـاريخ اعراض الاصابة وتاريخ ووقت أخد العينة كما ذكره سابقا.وايضـا تقليل فترة النقل مع استخدام ظروف مبردة اثناء النقل حيث يجب ايصال العينات إلى المختبر بأسرع ما يمكن بعد جمع العينات كي لا تفقد الفعالية infectivity مع الوقت.مع ملاحظة ان جمع العينـات يجب ان تكون في ظروف تعقيم كاملة قدرالإمكان. تستعمل مادة لمنع حدوث تخثر **Anti coagulate** في عينة الدم blood ،نخاع العظم bone marrow لان الاحياء المجهرية سوف ترتبط مع الخثرة ويحصل ضياع لها بحيث يصعب الكشف عنها بالفحوصات المختبرية كما تستعمل مادة Heparin تضاف الى المزروع او العينة الفيروسية (viral culture) لاجل تثبيط نمو بكتريا +G والخمائر.



اخذ عينات من التجويف الانفي البلعومي بواسطة الماسح



اخذ عينات من العين والحنجرة بواسطة الماسح

وضع عينات الماسح في وسط النقل الفيروسي

جدول (1) يوضح العينات التي يوصى بجمعها لكل فايروس والمرض الذي يسببه

Disease	*Associated Viruses*	*Recommended Specimen*
Congenital and Neonatal Infections	Rubella	CSF, throat, urine
	Cytomegalovirus	Urine, throat, blood, tissue, CSF
	Herpes Simplex Virus	CSF, throat, brain biopsy, vesicle
	Enterovirus	CSF, throat, stool, brain biopsy, autopsy
	Varicella-Zoster Virus	Vesicle, throat
Conjunctivitis and Corneal Lesions	Adenovirus	Eye swab
	Cytomegalovirus	Eye swab
	Enterovirus	Eye swab
	Herpes Simplex Virus	Corneal or conjunctival scrapings
	Varicella-Zoster Virus	Eye swab, corneal or conjunctival scrapings
Encephalopathies Aseptic Meningitis and Encephalitis	Adenovirus	CSF, brain biopsy, blood
	Arbovirus	CSF, brain biopsy, blood
	Cytomegalovirus	Brain biopsy, CSF
	Enterovirus	CSF, throat swab, stool, brain biopsy
	Herpes Simplex Virus	CSF, brain biopsy, blood
	LCM	Serological testing only
	Measles	CSF, urine
	Mumps	CSF, urine
	Parechovirus	CSF, stool
	Varicella-Zoster Virus	CSF, brain biopsy, skin lesions
Exanthems and Enanthems	Enterovirus	Vesicle swab, throat swab, stool
	Herpes Simplex Virus	Vesicle swab
	HHV-6	Serology/PCR
	Measles	Blood, throat swab
	Parvovirus B19	Serology/PCR
	Rubella	Throat swab, CSF, urine
	Varicella-Zoster Virus	Scrapings from fresh vesicle
Gastroenteritis	Adenovirus	Stool
	Astrovirus	Stool
	Norovirus	Stool
	Rotavirus	Stool
Genital Infections	Herpes Simplex Virus	Genital swab, vesicle swab, vesicle fluid
Malaise Syndrome	Cytomegalovirus	Blood, urine, throat swab
	Epstein-Barr Virus	Serological testing only
Myocarditis and Pericarditis	Coxsackie B 1-5	Pericardial fluid, throat swab
	Echovirus	Pericardial fluid, throat swab
Pneumonia	Adenovirus	Throat swab, nasopharyngeal (NP), bronchial wash, tissue
	Cytomegalovirus	Urine,throat swab, lung tissue, blood, bronchial wash
	Herpes Simplex Virus	Throat swab, bronchial wash, lung tissue, oral lesion, blood
	human Metapneumovirus	NP, throat swab, bronchial wash, lung tissue
	Influenza A/B	Throat wash, sputum, lung tissue, NP, bronchial wash
	Parainfluenza 1/2/3	Throat swab, sputum, lung tissue, NP, bronchial wash
	RSV	NP, bronchial wash, lung tissue
	SARS	NP, throat swab, bronchial wash, lung tissue
	Varicella-Zoster Virus	Lung tissue, bronchial wash, skin lesions, blood
Respiratory Tract Infections	Adenovirus	NP swab, transtracheal aspirate, throat swab
	Enterovirus	NP swab, throat swab
	human Metapneumovirus	NP, throat swab, bronchial wash, lung tissue
	Influenza A/B	NP, throat swab, sputum
	Parainfluenza 1/2/3	NP, throat swab
	Rhinovirus	NP, throat swab
	RSV	NP swab, aspirate or wash
	SARS	NP, throat swab, bronchial wash, lung tissue

جدول (2) يوضح مصدر العينات ، طرق جمعها وكيفية التعامل معها

Virology Collection & Transport by Source

Specimen Source	*Collection Procedure*	*Optimum Transport Procedure*
Blood	Collect 1 tube (4-7 mL) of heparinized (green top) or EDTA (purple top) blood.	Room Temperature
Body fluids other than blood or urine	Collect 2-3 mL in a sterile container	Up to 48 hours at 2-8° C (Refrigerated) Over 48 hours at -70° C (**FROZEN**)
Bone marrow	Collect 2 mL in Heparin or EDTA	Up to 48 hours at 2-8° C (Refrigerated) Over 48 hours at -70° C (**FROZEN**)
Bronchial wash/brush or alveolar lavages	Collect 2-3 mL and place in viral transport medium	Up to 48 hours at 2-8° C (Refrigerated) Over 48 hours at -70° C (**FROZEN**)
CSF	Collect 1mL in a sterile container. Do not dilute in VTM	Up to 48 hours at 2-8° C (Refrigerated) Over 48 hours at -70° C (**FROZEN**)
Eye swab or scraping	Swab the inflamed conjunctiva or corneal lesions. Place swabs or scrapings in viral transport medium.	Up to 48 hours at 2-8° C (Refrigerated) Over 48 hours at -70° C (**FROZEN**)
Nasopharyngeal	Collect 2 nasopharyngeal swabs. Place both swabs in viral transport medium.	Up to 48 hours at 2-8° C (Refrigerated) Over 48 hours at -70° C (**FROZEN**)
Sputum	Collect in a sterile container	Up to 48 hours at 2-8° C (Refrigerated) Over 48 hours at -70° C (**FROZEN**)
Stool	Collect 1-2 grams of fresh stool	Up to 48 hours at 2-8° C (Refrigerated) Over 48 hours at -70° C (**FROZEN**)
Swab	Collect on sterile swab and place in viral transport medium. Do not use wooden-shafted swabs or calcium alginate swabs.	Up to 48 hours at 2-8° C (Refrigerated) Over 48 hours at -70° C (**FROZEN**)
Throat	Collect on sterile swab and place in viral transport medium.	Up to 48 hours at 2-8° C (Refrigerated) Over 48 hours at -70° C (**FROZEN**)
Tissue	Place in viral transport medium.	Up to 48 hours at 2-8° C (Refrigerated) Over 48 hours at -70° C (**FROZEN**)
Urine	Collect 5 mL in a sterile container.	Up to 48 hours at 2-8° C (Refrigerated) Over 48 hours at -70° C (**FROZEN**)
Vesicular lesion	Collect the fluid and cellular material from the base of several fresh vesicles. Place in viral transport medium. Do not use calcium alginate swabs or swabs with wooden shafts.	Up to 48 hours at 2-8° C (Refrigerated) Over 48 hours at -70° C (**FROZEN**)