

# ویژه کارشناسان و مدیران اجرایی بخش بهداشت و آزمایشگاه



جمهوری اسلامی ایران  
وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی  
معاونت بهداشت

## نظام مراقبت ویروس های موتاسیون یافته

### SARS Cov 2

این راهنما مبتنی بر سیاست های کلان ستاد ملی مقابله با کرونا و با توجه به منابع و زیر ساخت های قابل تامین در کنترل اپیدمی COVID-19 تدوین شده است.

این راهنما با تغییر سیاست های کلان مبتنی بر نظر کمیته علمی و براساس شواهد علمی و ارزیابی های میدانی و سیر اپیدمیولوژی بیماری در فواصل زمانی مورد نیاز، به روزرسانی خواهد شد.

مرکز مدیریت بیماری های واگیر

مجموعه دستورالعمل های بهداشت و درمان در کنترل اپیدمی بیماری COVID-19

نسخه اول: بهمن ماه ۱۳۹۹

مولفین همکار:

مرکز مدیریت بیماری های واگیر

انسیتو پاستور ایران

آزمایشگاه ملی آنفلوانزا ایران

این مجموعه ضمن ارائه استانداردهای نظام مراقبت در شرایط ایده آل، به هرگونه تغییر دستورالعملها که مبتنی بر محدودیت های احتمالی در دسترسی به منابع اعمال شده است، اشاره می کند. بدیهی است آخرین دستورالعمل صادره مبتنی بر زیرساخت های موجود، ملاک اصلی عمل در دانشگاه بوده و لازم الاجرا است.

۳	بخش اول: کلیات
۴	مقدمه
۵	تعریف موتاسیون
۶	اهمیت موضوع
۷	اهداف تعیین شده برای نظام مراقبت تعیین توالی ویروسی توسط سازمان جهانی بهداشت
۸	ملزومات و زیر ساخت های مورد نیاز برای راه اندازی نظام مراقبت موتاسیون های ویروسی
۱۰	بخش دوم: معرفی نظام مراقبت موتاسیون کشور
۱۱	مبانی نظام مراقبت ویروس های موتاسیون یافته
۱۵	زیر ساخت های مورد نیاز نظام مراقبت ویروس های موتاسیون یافته
۱۵	۱.تشکیل کمیته مرکزی نظام مراقبت ویروس های موتاسیون یافته SARS CoV 2:
	۲.تقویت زیر ساخت های آزمایشگاهی
	۳.نظام ثبت و گزارش دهی
۱۷	انجام آزمایش تعیین توالی ژنوم ویروس
۱۹	بخش سوم: مفاهیم و اصول آزمایشگاهی نمونه گیری ، ارسال نمونه ، ونحوه پاسخدهی

# بخش اول: کلیات

## مقدمه

بیماریابی یکی از ارکان اصلی در کنترل بیماری‌های واگیر است. بیماریابی منجر به تشخیص بموقع بیماری‌های واگیر (Early Detection) می‌شود که از دو منظر حائز اهمیت است:

۱. درمان بموقع و کاهش عوارض بیماری

۲. پیشگیری از انتقال بیماری و کنترل اپیدمی

از طرف دیگر، پیگیری فعال (Active follow up) سیر بیماری و روند درمانی در بسیاری از بیماریها، می‌تواند منجر به کاهش پیامدهای ناخواسته و عوارض بیماری شود.

تعیین سیاست‌های کلان درمورد روش‌های بیماریابی؛ پیگیری فعال و استانداردهای روش انجام آنها، علاوه بر ماهیت بیماری مورد نظر، به وجود زیرساخت‌ها و منابع (نیروی انسانی، تجهیزات، ملزومات تشخیصی، بودجه و ....) وابسته است.

درمورد بیماری COVID-19، ناشناخته‌های مرتبط با ماهیت بیماری از یک طرف و احتمال تغییرات مکرر در ساختار ویروس (موتاسیون) از طرف دیگر، نیاز به بازبینی و به‌روز رسانی استانداردهای مرتبط با بیماریابی و پیگیری فعال بیماری را در موقعیت‌های مختلف، امری اجتناب ناپذیر می‌سازد. این مهم در گروه‌های جمعیتی و شرایط مختلف، متفاوت است و همین امر می‌تواند منجر به سردرگمی ارائه دهندگان خدمت شود.

این مجموعه اصول و استانداردهای کلی درباره نحوه شناسایی و رایانت های جدید ویروس ، بیماریابی ، تشخیص به هنگام و پیگیری فعال بیماران مبتلا به سوش های جدید ویروس کرونابرای جمعیت‌های مختلف و در شرایط و موقعیت های متفاوت است.

با توجه به توضیحات فوق، با تغییر در روند اپیدمی و دسترسی به منابع اطلاعاتی جدید، سیاست‌ها و استانداردها در مقاطع زمانی مختلف مورد بازبینی قرار گرفته و مجموعه حاضر، به‌روز رسانی خواهد شد.

## تعریف موتاسیون

ویروس SARS CoV 2 از خانواده کرونا ویروس هاست. یک RNA ویروس دارای envelop با وزن مولکولی 30kb است. روش توالی ژنتیکی امکان خوانش ژنوم ویروس را ممکن می کند. از آنجایی که هر پاتوژن دارای یک توالی ژنتیکی اختصاصی است، این روش می تواند در شناسایی ویروس های جدید کمک کننده باشد (نظیر آنچه در شناسایی SARS CoV 2 افتاد)

ژنوم SARS CoV 2 برای چهار پروتئین غیر ساختاری، چهار پروتئین ساختاری (شامل spike [S], envelope [E], membrane [M], nucleocapsid [N]) و تعدادی پروتئین های جانبی، کد می کند. ویروس SARS CoV 2 برای ورود به سلول میزبان نیازمند اتصال پروتئین S به گیرنده 2 angiotensin-converting enzyme (ACE-2) در میزبان است.

پروتئین S ویروس SARS CoV 2، خصوصاً در محل (RBD) receptor-binding domain، هدفی مهم برای ایجاد ایمنی ناشی از واکسن یا ابتلا به بیماری است. بنابراین، تغییرات در ژن کد کننده پروتئین S، بالقوه می تواند بر اثربخشی واکسن، ایمنی طبیعی ناشی از ابتلا و درمان با منوکلونال آنتی بادی ها تأثیر بگذارد.

وقتی ویروس تکثیر می شود، خصوصاً ویروس های RNA دار نظیر SARS CoV 2، موتاسیون ها در ژنوم رخ می دهد. اگر موتاسیون اکتسابی تأثیرات منفی تکوینی در ویروس نداشته باشد، ممکن است در جمعیت ویروس ها فیکس شود. تخمین زده می شود که میزان تغییرات تکوینی (Evolutionary) در SARS CoV 2 به گونه ای است هر تقریباً هر دو هفته یک Substitution در ویروس رخ می دهد. مطالعه تغییرات تکوینی و شناسایی سریع substitutions, insertions, deletions در ویروس که می تواند روی خصوصیات ویروس تأثیر بگذارد (تغییرات فنوتیپی)، یک ابزار ارزشمند برای مانیتور اپیدمیولوژیک بیماری می باشد.

از بین واضح ترین نتایج تعیین توالی ژنومی، شناسایی موتاسیون هایی است که می تواند باعث بروز تغییراتی در سرعت انتقال و یا میزان بیماریزایی ویروس شده و یا روی میزان توان روش های تشخیصی و اثربخشی درمانی و واکسیناسیون تأثیر بگذارند.

در حقیقت به مرور زمان با شناسایی موتاسیون های ایجاد شده و ردیابی انتشار ویروس، اطلاعات بیشتری در مورد دینامیک ویروس حاصل خواهد شد. در نهایت آنالیزهای فیلوژنتیک و فیلودینامیک اطلاعات وسیعی را در اختیار قرار می دهد که برای پاسخ به اپیدمی ها بسیار ارزشمند می باشد

## اهمیت موضوع

نظام مراقبت سکناس های ژنتیکی کووید-۱۹ و metadata های مربوط به آن برای پاسخ به همه گیری این بیماری اهمیت فوق العاده دارد. در نتیجه این اقدامات، ضمن ردیابی انتشار جغرافیایی SARS CoV 2 با گذشت زمان و شناسایی موتاسیون ها و نیز ارزیابی تاثیر هر کدام از آنها را بر پاتوژنیستی ویروس و انتقال آن را، مشخص می کند واکسن تا چه اندازه می تواند کمک کننده باشد.

هرچند هزینه sequencing بالا بوده و انجام آن هم کار پیچیده ای است و نیز امکان دارد به مرور زمان نیاز به انجام آن کاهش یابد ولی در حال حاضر بسیار مورد نیاز بوده و نیاز به سرمایه گذاری دقیق برای تامین پرسنل، تجهیزات، reagent و زیر ساخت های bioinformatics دارد.

کشورها لازم است هر چه سریعتر امکانات sequencing خود را فراهم نموده و با بمنظور دسترسی به اهداف سیستم بهداشتی با گروه علمی مرتبط به اشتراک گذارند. نیز این اطلاعات در یک سیستم شبکه ای sequencing در سطح جهانی قرار خواهد گرفت.

اطلاعات تعیین توالی ژنتیکی Genetic sequencing data ( GSD ) اکنون یک نقش محوری در مدیریت طغیان های بیماری های واگیر پیدا کرده است، برای تشخیص همینطور برای دارو و واکسن نقش حمایتی دارد و در جهت آگاهی از پاسخ به همه گیری نیز بسیار مهم و تعیین کننده است. ظرف یکسال گذشته بیش از ۲۸۰۰۰ مورد Full genome sequence در شبکه Genome sequence قرار گرفته است.

پروتئین Spike در ویروس بسیار مهم است به خصوص Receptor binding domain ( RBD ) هدف critical برای ایمنی natural و ایمنی Vaccine Induced است. از سوی دیگر تنوع ژن های کد شده در پروتئین Spike می تواند بالقوه بر روی اثر بخشی واکسن، ایمنی طبیعی و درمان با آنتی بادی های منو کلونال تاثیر بگذارند.

ویروس ها به خصوص ویروس های RNA مثل COVID.19 هنگامی که تکثیر پیدا میکنند تغییراتی در ژنوم آنها رخ میدهد. این تغییرات گاهی اساسی بوده و باعث تحولاتی در ویژگیهای رفتاری ویروس می شوند.

بدیهی است اطلاعات Sequence به تنهایی برای تصمیم گیر های مدیریتی کفایت نمی کند و باید در کنار اطلاعات اپیدمیولوژی و اطلاعات بالینی قرار گیرد تا معنی دار شود. اصولاً فعالیت های sequencing باید براساس دریافت اطلاعات اپیدمیولوژیک برنامه ریزی شوند در غیر این صورت هزینه های سنگینی را تحمیل خواهد کرد. کسانی که منوکلونال آنتی بادی تحت درمان قرار گرفته اند و پاسخ مناسبی در سیر بالینی و درمان مشاهده نشده است نیز جزء گروه هایی هستند که باید مورد توجه ویژه برای sequencing قرار گیرند.

## اهداف تعیین شده برای نظام مراقبت تعیین توالی ویروسی توسط سازمان جهانی بهداشت :

اهداف راه اندازی آزمایشگاه های تعیین توالی ویروسی به دو شکل تعریف شده است :

اهداف مرتبط با **اقدامات مقطعی** شامل :

- شناسایی اولیه SARS CoV 2 بعنوان عامل ایجاد کننده بیماری
- تدوین اقدامات تشخیصی لازم برای SARS CoV 2
- حمایت از تکوین درمان ها و واکسن
- ارزیابی زمان ورود ویروس به جمعیت انسانی و مطالعات مرتبط با یافتن منشأ ویروس
- ارزیابی و ارتقا شناسائی موارد عفونت مجدد در سطح فردی
- تفکیک بین عفونت طولانی و عفونت مجدد

اهداف مرتبط با **اقدامات مستمر در طول زمان** شامل :

- تعیین تغییر رفتار ویروس (تغییرات فنوتیپیک) برای مثال در زمینه تغییر انتقال یا پاتوژنیسیته
- تعیین میزان ایمنی از واکسن یا عفونت طبیعی
- اقدامات تشخیصی (مولکولی، سرولوژی، ارزیابی آنتی ژنی)
- مداخلات درمانی (نظیر آنتی بادی منوکلونال)
- مانیتور رفتار و عملکرد ویروس:

- a. بررسی انتشار جغرافیایی و گسترش مجدد ویروس در جمعیت ها
- b. بررسی ظغیان ها در شرایط و جمعیت های خاص (نظیر بیمارستان ها)
- c. ردیابی ورود مجدد ویروس به منابع حیوانی و بالعکس
- d. مانیتور محیط زیست و فاضلاب ها
- e. پشتیبانی از نظام مراقبت کلاسیک



## ملزومات و زیر ساخت های مورد نیاز برای راه اندازی نظام مراقبت

### موتاسیون های ویروسی :

- ۱- کلیه پرسنل درگیر در برنامه sequencing باید بسیار خوب تعلیم ببینند .
  - ۲- کلیه ذینفعان باید در همان ابتدا شناسایی و با آنها مشورت شود .
  - ۳- باید یک گروه تحلیل کننده - یک گروه آزمایشگاهی - یک گروه کنترل عفونت - یک گروه خدمات سلامت محیط و کار ، یک گروه advocacy با بیماران ، یک گروه تحقیقاتی در مورد مواجهه انسان و حیوان و یک گروه Communication برای این منظور در نظر گرفته شود .
  - ۴- پیشرفت پروژه باید مدام پایش و در فواصل منظم ارزشیابی شود .
  - ۵- درس آموخته ها حتماً با کلیه ذینفعان به اشتراک گذشته شود .
  - ۶- تمامی تحلیل های sequencing لازم است حتماً با مدیران میدانی کار آمد مورد بحث و بررسی قرار گیرد
  - ۷- در برنامه sequencing باید رعایت اخلاق به طور جدی مورد ملاحظه قرار گیرد .
  - ۸- استراتژی های نمونه گیری و ملاحظات مربوط به آن :
  - ۱- باید یک استراتژی مناسب برای نمونه گیری تهیه شود .
  - ۲- باید کل نمونه ویروس sequence شود نه بخشی از ساختمان آن
  - ۹- ملاحظات آزمایشگاهی
- استراتژی های تعیین توالی برای SARS-CoV-2 شامل رویکردهای هدفمندی است که به دانش ژنوم و روشهای متاژنومیک احتیاج دارد. قبل از اجرای برنامه ظرفیت توالی یابی ، باید به نیازهای مختلف از نظر منابع انسانی، صلاحیت های کارکنان، زیرساخت های آزمایشگاهی، زمان اجرا، هزینه ها، سهولت اجرا و امکان پذیر بودن و پردازش های بعدی داده ها توجه شود. اقدامات ایمنی زیستی و امنیت زیستی مناسب باید اجرا شوند. ارزیابی هزینه ها و ملزومات زیرساختی در تصمیم گیری اینکه آیا تعیین توالی یابی را با منابع داخلی انجام شود یا خارجی اثرگذار است. بدیهی است که فناوری به سرعت تغییر می کند و در نتیجه، ممکن است که تکنیک هایی منسوخ شوند یا تکنولوژی به سمت ابزار یا معرف های مختلف ارتقا یابد.

#### ۱۰- ملاحظات بیوانفورماتیک و محاسباتی

لجستیک مورد نیاز در این برنامه بسته به رویکرد اتخاذ شده متفاوت است. حجم داده های تولید شده به روش تعیین توالی و تعداد نمونه های توالی شده در بازه زمانی بستگی دارد. توان محاسباتی مورد نیاز برای تجزیه و تحلیل داده ها نیز با توجه به نوع توالی متفاوت است.

#### ۱۱- ملاحظات مربوط به نامگذاری ویروس

در حال حاضر روش نامگذاری واحدی برای SARS-CoV-2 هنوز مورد توافق جهانی نیست. اما طور کلی از سه استراتژی اصلی نامگذاری استفاده می شود. با افزایش تنوع در ژنوم های SARS-CoV-2، تقاضا برای روش ثابت نامگذاری در حال افزایش است. در حالی که هنوز هیچ نامگذاری ثابتی وجود ندارد و بهترین روش لیست کردن lineages و یا clades با استفاده از هر سه سیستم متداول است.

#### ۱۲- توالی ژنومی و اشتراک داده ها

به اشتراک گذاری سریع GSD پاتوژن، همراه با داده های اپیدمیولوژیکی و بالینی (بدون ذکر نام)، تأثیر برنامه توالی ژنومی را در پاسخدهی نظام سلامت ارتقا می بخشد. کیفیت داده های توالی، از جمله آلودگی احتمالی در روش PCR، باید قبل از اشتراک گذاری ها به دقت ارزیابی شود.

# بخش دوم: معرفی نظام مراقبت موتاسیون کشور

## مبانی نظام مراقبت ویروس های موتاسیون یافته

به طور کلی نظام مراقبت بر دو بخش اصلی استوار است :

### ۱- دیده وری روتین نمونه های PCR موجود

در این روش به صورت راندوم درصدی از نمونه های PCR مثبت اخذ شده از بیماران، با تواتر زمانی مشخص از نظر تعیین توالی ژنوم ویروسی بررسی می شوند .

این پایش بطور ماهیانه انجام می شود و انتظار می رود که از ۱۰ قطب آزمایشگاهی کشور در هر ماه ۳۰ نمونه جهت بررسی های بیشتر به آزمایشگاه منتخب ملی ارسال شوند. ترکیب این ۳۰ نمونه به گونه ای است که ۱۰ نمونه از بیماران سرپایی، ۱۰ نمونه بستری بهبود یافته، ۱۰ نمونه فوتی تهیه و ارسال گردند. در پایان از بین نمونه های ارسال در مجموع ۹۰ نمونه برای NGS انتخاب خواهد شد که ۳۰ توسط نمونه آزمایشگاه تخصصی انستیتو پاستور ایران یا آزمایشگاه نیلو انجام خواهند شد. ۳۰ نمونه توسط دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی و ۳۰ نمونه نیز توسط آزمایشگاه ملی آنفلوانزا بررسی می شوند.

### ۲- تشخیص به هنگام موارد مشکوک به ابتلا انواع موتاسیون یافته

در این روش ، اولویت های نمونه گیری برای تعیین توالی ژنوم ویروسی (بر حسب شرایط و لجستیک موجود) از گروه خاصی از افراد به شرح زیر انجام می شود:

۱. ارتباط اپیدمیولوژیک (سابقه سفر به کانون شناخته شده بیماری)
۲. موارد عفونت مجدد تایید شده توسط PCR
۳. موارد شکست درمان یا سیر پیشرفت بالینی سریع
۴. طغیان یا خوشه های با سرعت انتشار قابل توجه (خانوادگی، محل کار، اقامت)

#### ۱. ارتباط اپیدمیولوژیک

**الف. سابقه سفر به کانون شناخته شده بیماری :** مسافران به شهرها و کشورهایی که گردش ویروس در آن جامعه گزارش شده است، باید به محض ورود به کشور یا شناسایی توسط نظام سلامت در چرخه نمونه گیری و ارزیابی ویروس شناختی قرار گیرند. لذا مسافرین ورودی از این کشورها واجد انجام غربالگری ویژه

می باشند. مسلمان کشورهای مد نظر متناسب با گزارش های بین المللی تغییر خواهد کرد و در هر مقطع زمانی توسط مرکز مدیریت بیماریهای واگیر اعلام خواهد شد. از مسافری ورودی از کشورهایی که توسط مرکز مدیریت بیماریها اعلام شده و دارای PCR مثبت هستند جهت "آزمایش تعیین توالی ژنوم ویروس" نمونه تهیه می شود. نحوه جداسازی و قرنطینه مسافری در هر مقطع زمانی مطابق میزان دسترسی به منابع وزیر ساخت های موجود و مطابق دستورالعمل مراقبت مرزی تعیین می شود.

## ۲. موارد عفونت مجدد تایید شده توسط PCR

قبل از ارسال نمونه برای بررسی موتاسیون در عفونت های مجدد، ضروری است که نمونه قبلی از عفونت نوبت اول موجود باشد و سپس اقدام به ارسال نمونه جدید نمود. طبق تعریف مورد عفونت مجدد دارای دسته بندیهای متفاوتی است<sup>۱</sup> در کل افرادی با مشخصات زیر که به عنوان مورد مشکوک به عفونت مجدد بالینی و اپیدمیولوژیک شناخته می شوند اندیکاسیون تهیه نمونه برای انجام "تعیین توالی ژنوم ویروس" دارند تا بتوان

- **۱ عفونت مجدد / اپیدمیولوژیکال:** در این نوع از عفونت مجدد فرد می تواند علامت دار باشد یا نباشد، و تست مولکولی مثبت است و ویروس قابل کشت وجود دارد یا Ct کمتر ۳۵ می باشد. بازه زمانی معمولاً بیش از یک ماه با عفونت نوبت اول فاصله دارد و ریسک فاکتورهای اپیدمیولوژیک و تماس با فرد، منطقه طغیان یا کانون عفونت مشاهده می شود.
- **عفونت مجدد بالینی:** در این نوع از عفونت مجدد فرد علامت های مشخصه بیماری کووید-۱۹ را دارد و تست مولکولی مثبت است و ویروس قابل کشت وجود دارد یا Ct کمتر ۳۵ می باشد. بازه زمانی عفونت نوبت بعدی معمولاً بیش از یک ماه با عفونت نوبت اول فاصله دارد (معمولاً ۳ ماه بین دو اپیزود فاصله وجود دارد) و ریسک فاکتورهای اپیدمیولوژیک و تماس با فرد، منطقه طغیان یا کانون عفونت مشاهده می شود و دلایل بالینی دیگری برای توجیه کننده حالات بالینی فرد وجود ندارد.
- **عفونت مجدد قطعی (آزمایشگاهی):** در این نوع از عفونت مجدد فرد علامت های مشخصه بیماری کووید-۱۹ را دارد و تست مولکولی مثبت است و ویروس قابل کشت وجود دارد یا Ct کمتر ۳۵ می باشد. بازه زمانی عفونت نوبت بعدی معمولاً بیش از ۳ ماه بعد از عفونت اول می باشد و سکانس RNA ویروس نشان دهنده دو Strain مختلف از ویروس می باشد. در صورتی که بازه زمانی کمتر از ۳ ماه را بخواهیم مد نظر قرار دهیم نیاز به حداقل دو آزمایش PCR منفی در بین دو اپیزود و شواهد اپیدمیولوژیک برخورد با بیمار قطعی یا کانون طغیان می باشد.

به تایید آزمایشگاهی و عفونت مجدد قطعی رسید. این افراد شامل مواردی هستند که دو PCR مثبت در فاصله سه ماه داشته به شرطی که یک PCR منفی در بین آن دو PCR داشته باشد. مواردی که فردی که سه ماه قبل علامت های مشخصه بیماری کووید-۱۹ با تست مولکولی مثبت داشته است. در صورتی که بازه زمانی کمتر از ۳ ماه را بخواهیم مد نظر قرار دهیم نیاز به حداقل دو آزمایش PCR منفی در بین دو اپیزود و شواهد اپیدمیولوژیک برخورد با بیمار قطعی یا کانون طغیان می باشد. در شناسایی موارد عفونت مجدد باید حالت های مختلف را مد نظر داشت تا بتوان عفونت های مجدد را از عود و مثبت شدن مجدد نمونه<sup>۲</sup>، افتراق داد.

### ۳. موارد شکست درمان یا سیر پیشرفت بالینی سریع و شواهد اپیدمیولوژیک تماس با سوش های

#### موتاسیون یافته

یکی دیگر از مواردی که می تواند به شک به حضور ویروس جهش یافته منجر شود موفق نبودن درمان در بیماران و سرعت سیر بالینی و همچنین بیمارانی که پلاسمای convalescent یا آنتی بادی منوکلونال دریافت نموده اند اما

۲

باز فعال شدن و باز مثبت شدن آزمایش نیز که متفاوت از عفونت مجدد می باشند، مشخصاتی دارند که باید به آنها توجه داشت:

**عود:** در موارد عود و باز فعالی بیماری مشخصات بیماری کووید-۱۹ در بیمار وجود دارد و تست مولکولی مثبت است و ویروس قابل کشت وجود دارد یا Ct کمتر ۳۵ می باشد. فاصله دو اپیزود بیماری کمتر از ۳ ماه است و توصیه اکید بر این است که بیمار جداسازی شده و شرایط ایزوله رعایت شود. همچنین شواهد اپیدمیولوژیک برخورد مجدد با بیمار وجود ندارد و گردش بیماری در جامعه بسیار کم می باشد.

**بازمثبتی:** باز مثبت شدن: در این نوع از عفونت مجدد فرد بی علامت است و تست مولکولی مثبت است هرچند ویروس قابل کشت وجود ندارد یا Ct بیشتر از ۳۵ می باشد. بازه زمانی عفونت نوبت بعدی معمولاً کمتر از ۳ ماه بعد از عفونت اول می باشد. در باز مثبت شدن ها نیازی به ایزوله نمودن فرد نمی باشد.

**مثبت کاذب:** برای شناسایی موارد عفونت مجدد باید توجه داشت که در شرایطی که احتمال مثبت بودن کم است یا شیوع بیماری بسیار پایین باشد، احتمال مثبت کاذب حتی در بهترین حالت هم وجود دارد (هرچند بسیار احتمال کمی باشد) و لذا باید اطمینان حاصل نمود که نمونه مثبت کاذب نیست و ویروس قابل کشت می باشد و از آنجا که کشت ویروس در شرایط فعلی امکان پذیر نمی باشد می توان به شاخص Ct در آزمایش RT-PCR دقت نمود که در صورتی که کمتر از ۳۵ باشد احتمالاً نمونه مثبت واقعی می باشد و هرچه این عدد کمتر باشد به معنای تعداد بیشتر ویروس در نمونه می باشد. دلایل مثبت کاذب می تواند خطای انسانی، حمل و نقل، تحلیل، جمع آوری نمونه و مشخصات تست باشد. از سوی دیگر در برخی بیماران امکان دارد تست بدلیل شناسایی بقایای قطعات ویروس بطور کاذب مدت ها بعد از بهبودی بیمار نیز مثبت بماند که باید مد نظر پزشکان باشد.

پاسخ به درمان مناسب نبوده است در صورتی که شواهد اپیدمیولوژیک تماس با موارد موتاسیون یافته را داشته باشند، با نظر پزشک اندیکاسیون ارسال نمونه برای "تعیین توالی ژنوم ویروسی" دارند. موارد اخیر در زمینه عفونت مجدد نیز حائز اهمیت می باشند.

#### ۴. طغیان یا خوشه های با سرعت انتشار قابل توجه (خانوادگی، محل کار، اقامت)

در صورتی که منطقه ای با طغیان های سریع رشد روبرو شوند بین ۱ تا ۵ نمونه در هر منطقه با سرعت انتشار سریع به صورت راندوم برای "تعیین توالی ژنوم ویروسی" می توان ارسال نمود.

## زیر ساخت های مورد نیاز نظام مراقبت ویروس های موتاسیون یافته

۱. تشکیل کمیته مرکزی نظام مراقبت ویروس های موتاسیون یافته SARS CoV 2:

این کمیته در مرکز مدیریت بیماری های واگیر در وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی برگزار می شود.

رئیس کمیته: وزیر محترم بهداشت جناب آقای دکتر نمکی

دبیر کمیته: رئیس محترم مرکز مدیریت بیماری های واگیر جناب آقای دکتر گویا

اعضاء کمیته:

کمیته متشکل از مسئولین اجرایی و متخصصین رشته های مختلف تخصصی به شرح زیر می باشد:

- معاون محترم درمان وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی
- معاون محترم بهداشت وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی
- معاون محترم پژوهش وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی
- سه نفر متخصص عفونی
- یک نفر متخصص کودکان و نوزادان
- دو نفر فوق تخصص ریه
- دو نفر اپیدمیولوژیست
- دو نفر ایمونولوژیست
- دو نفر متخصص ویروس شناسی
- دو نفر متخصص ژنتیک
- دو نفر متخصص علوم آزمایشگاهی

شرح وظایف:

- تدوین نقشه راه نظام مراقبت ویروس های موتاسیون یافته SARS CoV 2 در ایران



- ارزیابی اطلاعات جمع آوری شده از مطالعات و بررسی های انجام شده در کشور
- تهیه گزارشات وضعیت موتاسیون های ویروسی در سطح کشور بر اساس گزارشات دریافتی و به روز رسانی بر اساس تواتر تعیین شده
- تهیه نقشه اپیدمیولوژی ویروس های موتاسیون یافته SARS CoV 2 در ایران و به روز رسانی بر اساس تواتر تعیین شده
- ارائه هشدارها و راهکار های به هنگام بر اساس نتایج مطالعات برای تصمیم گیری های ملی

## تعیین استاندارد فرایند انجام آزمایش تعیین توالی ژنوم ویروس

این خدمت باید به چه کسانی ارائه شود؟



۱. ارتباط اپیدمیولوژیک (سابقه سفر به کانون شناخته شده بیماری)
۲. موارد عفونت مجدد تایید شده توسط PCR
۳. موارد شکست درمان یا سیر پیشرفت بالینی سریع
۴. طغیان یا خوشه های با سرعت انتشار قابل توجه (خانوادگی، محل کار، اقامت)

این خدمت با چه هدفی ارائه می شود؟



۱. تشخیص زود هنگام بیماری موارد موتاسیون یافته
۲. جداسازی موارد مبتلا و پیشگیری از انتشار ویروس و قطع زنجیره انتقال

این خدمت چگونه ارائه می شود؟



۱. افراد کاندید نمونه گیری توسط کارکنان نظام سلامت (بهداشت و درمان) تعیین می شوند .
۲. نمونه توسط نمونه گیر دوره دیده مطابق دستورالعمل آزمایشگاه تهیه و به آزمایشگاه تعیین شده ارسال می شود .
۳. نمونه تهیه شده در سیستم پورتال مخصوص تعیین موتاسیون ثبت می شود .
۴. آزمایشگاه بعد از

این خدمت توسط چه کسی ارائه می شود؟



- نمونه ها با هماهنگی با مرکز بهداشت پوشش دهنده بیمارستان / منطقه به آزمایشگاه به همراه فرم مورد نظر ارسال می شود.

## تعیین استاندارد فرایند انجام آزمایش تعیین توالی ژنوم ویروس

این خدمت در چه زمانی، با چه توانی و چه مدت باید ارائه شود؟



- در صورت شناسایی موارد تعریف شده نمونه های بعد از هماهنگی ارسال می شود
- در هر ماه از هر قطب ۱ نمونه از موارد مثبت شده در تست غربالگری Variant of Concern

ثبت و گزارش دهی این خدمت در چه قالبی انجام می شود؟

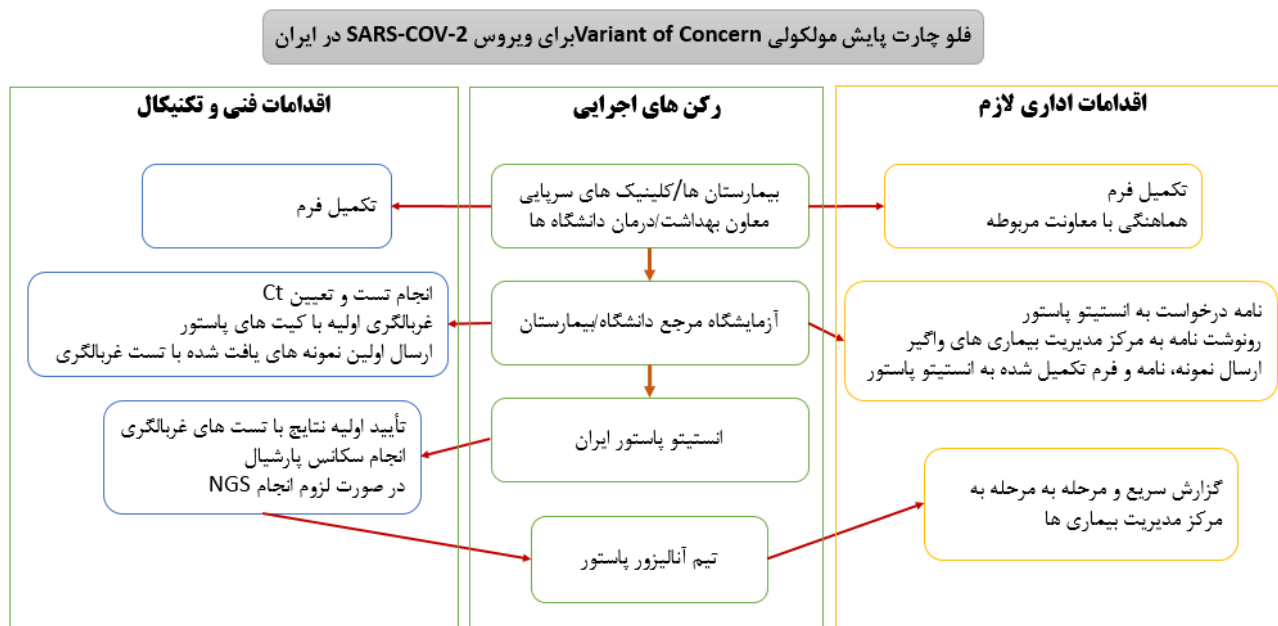
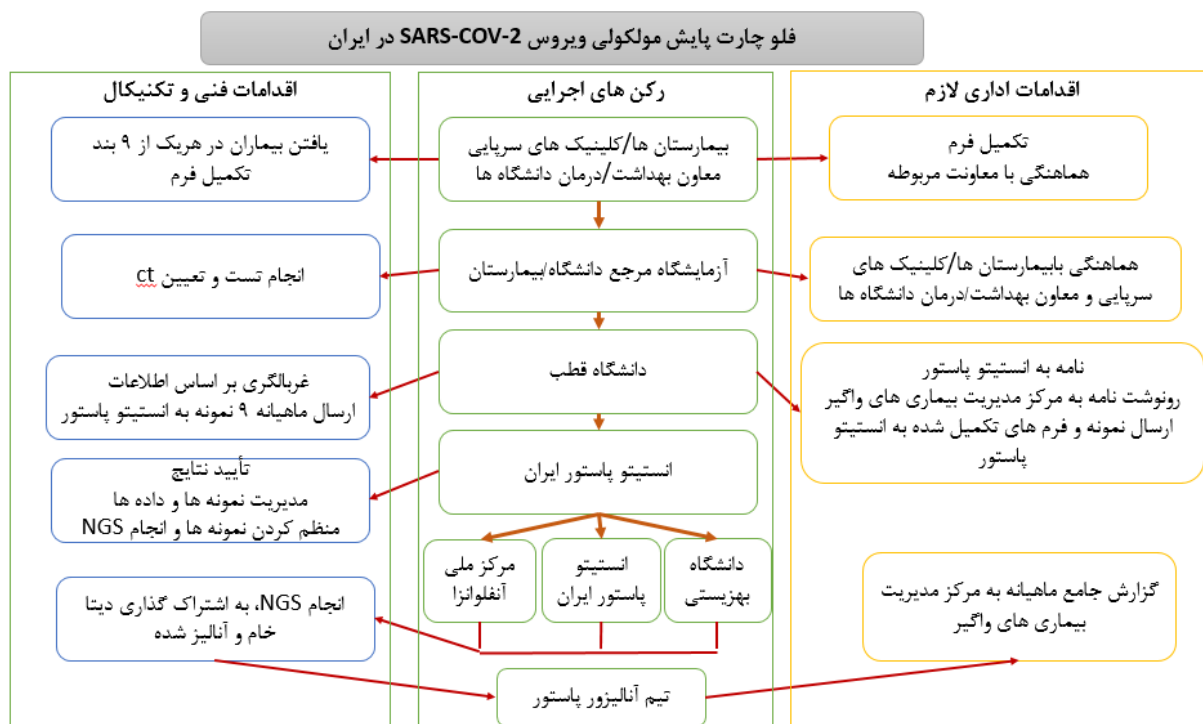


- در پورتال مرکز مدیریت بیماری های واگیر ثبت موارد انجام می شود

# بخش سوم: فرم و گردش کار آزمایشگاهی

## گردش کار

بر اساس فلوچارت های ذیل گردش کار انجام خواهد شد و اقدامات تکنیکال و اداری لازم رعایت شوند.



## فرم پایش مولکولی ویروس SARS-COV-2

اطلاعات فردی	
۱. نام و نام خانوادگی بیمار:	۲. کد ملی:
۳. جنسیت بیمار: <input type="checkbox"/> زن <input type="checkbox"/> مرد	۴. سن بیمار: ----- سال یا اگر < ۱ سال ----- ماه
۵. ملیت بیمار: -----	۶. محل سکونت بیمار: -----
علت انتخاب نمونه (۹ بند)	
۷. موارد مشکوک به عفونت مجدد <input type="checkbox"/>	اگر بله، تاریخ عفونت قبل ----- آیا عفونت اولیه با تست PCR تأیید شده است؟ در کجا؟
۸. موارد عفونت پس در دریافت واکسن و وجود پاسخ آنتی بادی مناسب <input type="checkbox"/>	اگر بله، تاریخ دریافت واکسن:
۹. عفونت های طولانی در افراد با نقص سیستم ایمنی <input type="checkbox"/>	اگر بله، علت نقص ایمنی:
۱۰. عفونت در افرادی که دارای تماس های زیاد با حیوانات مستعد به SARS-CoV-2 می باشند <input type="checkbox"/>	اگر بله، نوع حیوان:
۱۱. موارد با سرعت انتشار زیاد <input type="checkbox"/>	اگر بله، توضیحات:
۱۲. موارد با سیر بالینی سریع/ علایم غیر معمول <input type="checkbox"/>	اگر بله، چه علائمی؟
۱۳. شکست درمان <input type="checkbox"/>	اگر بله، چه درمان هایی؟
۱۴. موارد دارای لینک اپیدمیولوژیک با Variant of concern <input type="checkbox"/>	۱۵. درصدی از موارد مثبت شده در تست غربالگری Variant of Concern (از هر قطب ۱ نمونه در هر ماه)
سابقه اپیدمیولوژی	
۱۶. آیا بیمار در ۱۴ روز پیش از بروز علائم به سفر خارجی یا داخلی داشته است؟ بله <input type="checkbox"/> خیر <input type="checkbox"/> نامشخص <input type="checkbox"/>	
۱۷. اگر بله محل سفر را مشخص کنید: -----	
۱۸. تاریخ شروع سفر ----- تاریخ برگشت از سفر ----- تاریخ ورود و خروج از فرودگاه ----- ترانزیت ----- تاریخ ورود به ایران ----- تاریخ شروع قرنطینه خانگی -----	
۱۹. مشخصات پرواز مسافر (پرواز ورودی به ایران) شامل شماره بلیط ----- شماره پرواز -----	
علائم بالینی و درمان	
۲۰. آیا بیمار هر یک از این علائم را دارد؟ تب <input type="checkbox"/> سرفه <input type="checkbox"/> گلودرد <input type="checkbox"/> تنگی نفس <input type="checkbox"/> لرز <input type="checkbox"/> سردرد <input type="checkbox"/> درد عضلات <input type="checkbox"/> تهوع <input type="checkbox"/> درد شکم <input type="checkbox"/> اسهال <input type="checkbox"/> علائم دیگر -----	
آیا بیمار بستری است؟ بله <input type="checkbox"/> خیر <input type="checkbox"/>	۲۱. آیا در ICU بستری است؟ بله <input type="checkbox"/> خیر <input type="checkbox"/>
تاریخ بستری -----	تاریخ بستری -----
۲۲. آیا ایزوله شده است؟ بله <input type="checkbox"/> خیر <input type="checkbox"/>	
تاریخ بستری -----	
۲۳. آیا بیمار هر یک از بیماری های زمینه ای را دارد؟ نامشخص <input type="checkbox"/> آسم یا تنگی نفس <input type="checkbox"/> بارداری <input type="checkbox"/> دوران پس از زایمان <input type="checkbox"/> دیابت <input type="checkbox"/> مشکل قلبی <input type="checkbox"/> فشارخون <input type="checkbox"/> مشکل کلیوی <input type="checkbox"/> مشکل کبدی <input type="checkbox"/> نقص سیستم ایمنی <input type="checkbox"/> سرطان یا بدخیمی <input type="checkbox"/> سایر -----	
۲۴. آیا بیمار درمان دریافت کرده است؟ درمان حمایتی <input type="checkbox"/> آنتی بیوتیک <input type="checkbox"/> (نوع آنتی بیوتیک: -----) داروهای ضد ویروسی <input type="checkbox"/> (نوع دارو: -----)	
۲۵. آیا بیمار فوت کرده است؟ بله <input type="checkbox"/> خیر <input type="checkbox"/> اگر بله تاریخ فوت: -----	
۲۶. آیا بیمار مرخص شده است؟ بله <input type="checkbox"/> خیر <input type="checkbox"/> اگر بله تاریخ ترخیص: -----	
۲۷. آیا تشخیص قطعی آزمایشگاهی عفونت های ویروسی تنفسی دیگر صورت گرفته است؟ بله <input type="checkbox"/> خیر <input type="checkbox"/>	

۲۸. اگر بله، نوع عفونت را مشخص نمایید: <input type="checkbox"/> Adenovirus <input type="checkbox"/> H. Metapneumovirus <input type="checkbox"/> RSV <input type="checkbox"/> Influenza <input type="checkbox"/> Coronavirus (OC43, 229E, HKU1, NL63) <input type="checkbox"/> Rhinovirus/enterovirus عوامل دیگر <input type="checkbox"/> ----- ---		
اطلاعات نمونه		
۲۹. نوع نمونه: <input type="checkbox"/> سوآب بینی <input type="checkbox"/> سوآب حلق <input type="checkbox"/> BAL	۳۰. نمونه های دیگر <input type="checkbox"/> نوع نمونه -----	۳۱. تاریخ تهیه نمونه -----
۳۲. آیا نمونه بیمار از نظر عفونت کروناویروس (SARS-COV-2) در آزمایشگاه (های) دیگر بررسی شده است؟ بله <input type="checkbox"/> خیر <input type="checkbox"/> اگر بله، نام آزمایشگاه ----- تاریخ تست اول بیمار ----- نتیجه تست مثبت <input type="checkbox"/> منفی <input type="checkbox"/> مشکوک (تک ژن) <input type="checkbox"/>		
نتایج آزمایشگاهی تست کرونا در صورت انجام:		
۳۳. کیت دیگر نام کیت Real-Time PCR و نام ژنهای هدف:	۳۴. Gene Target 1 Ct Value-----	۳۵. Gene Target 2 Ct Value-----
۳۶. آیا نمونه بیمار با کیت غربالگری VOCs انستیتو پاستور تست شده است؟ بله <input type="checkbox"/> خیر <input type="checkbox"/>		
۳۷. اگر بله	۳۸. Gene Target 1 Ct Value-----	۳۹. Gene Target 2 Ct Value-----
۴۰. آیا همراهان و نزدیکان بیمار از نظر عفونت کروناویروس جدید (SARS-COV-2) بررسی شده است؟ بله <input type="checkbox"/> خیر <input type="checkbox"/> اگر بله نام همراه (ان) ----- تاریخ تست ----- نتیجه تست -----		
۴۱. توضیحات تکمیلی		
۴۲. تاریخ تکمیل فرم: ----- محل گزارش (روستاء، شهرستان و استان) -----		
۴۳. نام و شماره تماس گزارش گیرنده (تکمیل کننده فرم): -----		