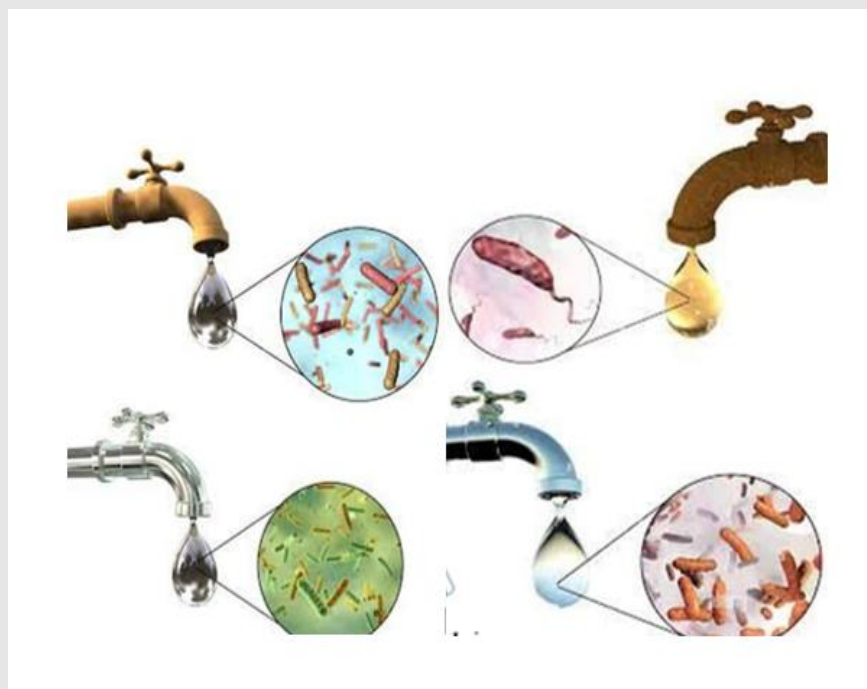


دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی و پلیش

ویروس ها به روش

Real-time PCR



سال ۱۴۰۵

مشارکت کنندگان به ترتیب حروف الفبا:

سمت / محل اشتغال

نسترن انصاری	آزمایشگاه مرجع ویروس آب و فاضلاب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان
ایوب بیکی	رئیس اداره بهداشت آب و فاضلاب-مرکز سلامت محیط و کار
مهدی خدابخشی	کارشناس بهداشت آب و فاضلاب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان
اقدس خیری	کارشناس اداره بهداشت آب و فاضلاب-مرکز سلامت محیط و کار
خدیجه رحیمی	کارشناس بهداشت آب و فاضلاب- معاونت بهداشت- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی
درمانی شهید بهشتی	
غلامرضا شقاقی	معاون بهداشت محیط مرکز سلامت محیط و کار
رضا کیانی	آزمایشگاه مرجع ویروس آب و فاضلاب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران
رضا محبی	آزمایشگاه مرجع ویروس دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
علیرضا ناجی	آزمایشگاه ویروس بیمارستان مسیح دانشوری

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی و پایش ویروس ها

فهرست

مقدمه	۳
بخش اول اهداف، دامنه کاربرد، ویروس های هدف و معیار انتخاب ویروس	۴
بخش دوم: مواد شیمیایی و تجهیزات مورد نیاز و حجم پیشنهادی نمونه	۸
۱- مواد شیمیایی برای نمونه برداری آب	۸
بخش سوم : نمونه برداری از آب و فاضلاب	۱۳
۱- جمع آوری و انتقال نمونه	۱۳
۱-۳- اقدامات کنترلی در حین نمونه برداری از آب	۱۳
۲-۳- نمونه های کنترل کیفیت	۱۳
۵-۳- آماده سازی وسایل نمونه برداری میدانی آب	۱۵
۶-۳- روش نمونه برداری آب	۱۶
۷-۳- نمونه برداری فاضلاب	۱۹
۱-۷-۳- جمع آوری و حمل نمونه فاضلاب	۱۹
۲-۷-۳- انواع نمونه فاضلاب	۱۹
۲-۷-۳- تجهیزات جمع آوری نمونه فاضلاب	۲۰
۳-۷-۳- روش جمع آوری نمونه فاضلاب	۲۱
۴-۷-۳- شرایط انتقال نمونه فاضلاب به آزمایشگاه	۲۲
مراجع	۲۵

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی و پایش ویروس ها

مقدمه

پایش ویروس های انسانی در آب و فاضلاب، یکی از ارکان اساسی نظام مراقبت بهداشت محیط و ابزاری موثر برای ارزیابی وضعیت سلامت جامعه، شناسایی زود هنگام گردش عوامل بیماری زا در جامعه و حمایت از برنامه های پیشگیری، کنترل و ریشه کنی بیماری های عفونی و ویروسی محسوب می شود. با توجه به اینکه بسیاری از ویروس های بیماری زا می توانند از طریق فاضلاب و منابع آبی در محیط منتشر شوند، انجام نمونه برداری صحیح، استاندارد و قابل اعتماد، نقش تعیین کننده ای در دستیابی به نتایج دقیق، قابل اعتماد و قابل تفسیر دارد.

این دستورعمل با هدف استاندارد سازی فرآیند نمونه برداری از آب و فاضلاب جهت پایش مولکولی ویروس انسانی با استفاده از روش Real-time PCR تدوین شده است. در این دستورعمل، الزامات مربوط به انتخاب محل نمونه برداری، تجهیزات مورد نیاز، روش صحیح برداشت نمونه، شرایط نگهداری و انتقال و پیشگیری از آلودگی و حفظ کیفیت نمونه به منظور افزایش دقت و صحت بیان شده است.

اجرای یکنواخت این دستورعمل در دانشگاه های ها/ دانشکده های علوم پزشکی کشور با تامین تجهیزات، آموزش نیروی انسانی و رعایت الزامات فنی، گامی موثر در ارتقای نظام پایش ویروس های انسانی در آب و فاضلاب و تقویت نظام مراقبت خواهد بود.

انتظار می رود دانشگاه ها/ دانشکده ها بتوانند با تهیه دستگاه ها و تجهیزات مورد نیاز برای نمونه برداری ویروسی، چرخه گردش ویروس ها در محیط را کنترل نمایند.

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی و پایش ویروس ها

بخش اول اهداف، دامنه کاربرد، ویروس های هدف و معیار انتخاب ویروس

۱- اهداف و دامنه کاربرد

۱-۱- هدف اصلی:

- ارائه روش نمونه برداری استاندارد: هدف این پروتکل، ارائه یک روش استاندارد و قابل اجرا برای نمونه برداری از آب و فاضلاب جهت شناسایی و پایش مولکولی ویروس های انسانی است.

۱-۲- اهداف فرعی:

- شناسایی زودهنگام و پایش اپیدمیولوژیک: تشخیص ویروس های بیماری زا در فاضلاب پیش از بروز طغیان در جمعیت و ارزیابی گردش ویروس ها در سطح جامعه، که امکان مداخله سریع بهداشتی، درک الگوهای انتقال و شناسایی شیوع های پنهان را فراهم می کند.
- شناسایی عامل اتیولوژی بیماری در طغیان ها: تشخیص ویروس های بیماری زا در آب در زمان بروز طغیان، ارائه راهکار جلوگیری از گسترش بیماری و پیشگیری از وقوع طغیان های مشابه را فراهم می کند.
- حمایت از تصمیم گیری های بهداشتی: ارائه داده های قابل اعتماد برای سیاست گذاری و مدیریت بحران های سلامت عمومی
- ایجاد توانمندی فنی: تقویت ظرفیت آزمایشگاه های ویروس شناسی محیطی در سطح ملی برای انجام تحلیل های مولکولی پیشرفته
- پشتیبانی از برنامه های ریشه کنی بیماری های ویروسی (مانند برنامه جهانی ریشه کنی پولیو)

۱-۳- دامنه کاربرد:

این دستور عمل برای نمونه برداری از آب و فاضلاب برای بررسی ویروس ها در آزمایشگاه های مرجع ویروس شناسی آب و فاضلاب تهیه شده و در موارد زیر کاربرد دارد:

- نمونه برداری از آب: نمونه برداری از منابع آب (سطحی و زیر زمینی) و سامانه آب رسانی (مخزن، تصفیه خانه، شبکه توزیع)
- نمونه برداری از فاضلاب: نمونه برداری از فاضلاب شهری (شامل فاضلاب خام ورودی به تصفیه خانه ها، ایستگاه های پمپاژ اصلی و شبکه های جمع آوری فاضلاب) فاضلاب صنعتی (پساب های زیستی تولید شده

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شنای ویروس ها

توسط کارخانه ها و صنایعی که احتمال حضور پاتوژن های انسانی در آنها وجود دارد مانند صنایع غذایی یا بیمارستان ها).

۱-۴- زمان نمونه برداری:

- در زمان طغیان بیماری های منتقله از آب
 - وقتی تعداد مبتلایان بیشتر از ۵۰ نفر است
 - وقتی علائم بیماری، عامل ویروسی بودن طغیان را تقویت می کند
 - وقتی نتایج نمونه های بالینی، عامل ویروسی بودن طغیان را تقویت می کند
 - وقتی که ارزیابی ریسک سامانه آبرسانی پایین است، احتمال باکتریایی بودن عامل بیماری به دلیل گندزدایی پایدار آب کم است.
- در زمان ابلاغ برنامه ملی اپیدمیولوژی مبتنی بر فاضلاب
- در زمان ابلاغ کتبی مرکز سلامت محیط و کار برای شرایط خاص

۲- ویروس های هدف

ویروس های هدف بر اساس اهمیت اپیدمیولوژیک به ویژه با توجه به اپیدمیولوژی منطقه ای، شیوع فصلی و پتانسیل ایجاد تهدید برای سلامت عمومی به شرح ذیل انتخاب شده اند. همچنین به صورت انعطاف پذیر قابل تنظیم بر اساس نیازهای منطقه ای هستند.

- **آدنوویروس (Adenovirus):** ویروس های مقاوم با انتقال مدفوعی-دهانی که عامل بیماری های تنفسی، گوارشی، و چشمی هستند.
- **روتاویروس (Rotavirus):** عامل اصلی اسهال شدید در کودکان، به ویژه در فصول سرد. پایش روتاویروس برای ارزیابی اثربخشی برنامه های واکسیناسیون و شناسایی طغیانهای منطقه ای مفید است.
- **نوروویروس GI و GII (Norovirus GI & GII):** شایع ترین عامل گاستروانتریت ویروسی در بزرگسالان و کودکان، با شیوع بالا در فصول سرد. شناسایی نوروویروس در آب و فاضلاب برای پیش بینی اپیدمی های فصلی حیاتی است.

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی ویروس‌ها

- **انتروویروس (Enterovirus):** گروهی از ویروس‌ها (مازند کوکساکسی ویروس و اکوویروس) که با بیماری‌های متنوع (از عفونت‌های خفیف تا مننژیت) مرتبط هستند و در آب و فاضلاب قابل ردیابی‌اند.
- **ویروس هپاتیت E (HEV):** ویروس مدفوعی-دهانی که عامل هپاتیت حاد است و در مناطق با شرایط بهداشتی نامناسب یا دسترسی محدود به آب سالم شیوع بالایی دارد. پایش HEV در آب و فاضلاب برای شناسایی مناطق پرخطر و ارزیابی ریسک اپیدمی‌های محلی، به‌ویژه در مناطق با اپیدمیولوژی خاص، ضروری است.
- **SARS-CoV-2:** عامل بیماری کووید-۱۹، که پایش آن در فاضلاب برای شناسایی زودهنگام پیک‌های اپیدمی و ارزیابی گردش ویروس در جامعه مؤثر است.
- **ویروس هپاتیت A (HAV):** ویروس مدفوعی-دهانی که در مناطق با شرایط بهداشتی نامناسب شیوع دارد و پایش آن برای برنامه‌های پیشگیری ضروری است.
- **آستروویروس (Astrovirus):** عامل گاستروانتریت در کودکان و افراد با نقص ایمنی، که در آب و فاضلاب قابل شناسایی است.
- **سپوویروس (Sapovirus):** مشابه نوروویروس، عامل گاستروانتریت با شیوع کمتر، که می‌تواند برای پایش جامع‌تر در نظر گرفته شود.
- **پاراکوویروس**

۳- معیار انتخاب ویروس‌ها

- **اهمیت اپیدمیولوژیک:** ویروس‌هایی با پتانسیل ایجاد اپیدمی یا بیماری‌های گسترده (مانند نوروویروس، روتاویروس و هپاتیت E)، به‌ویژه در مناطقی با شیوع بالای این ویروس‌ها.
- **دفع در مدفوع:** ویروس‌هایی که به مقدار قابل‌توجهی از طریق مدفوع دفع می‌شوند و در آب و فاضلاب پایدار هستند (مانند HEV و آدنوویروس).
- **قابلیت تشخیص مولکولی:** ویروس‌هایی که با روش‌های مولکولی استاندارد مانند Real-Time RT-PCR قابل شناسایی‌اند و کیت‌ها یا پرایمرهای معتبر برای آن‌ها در دسترس است.
- **تطبیق با نیازهای منطقه‌ای:** اولویت‌بندی ویروس‌ها بر اساس شیوع منطقه‌ای (مانند هپاتیت E در مناطق با آب آلوده)، الگوهای فصلی، یا تهدیدات خاص (مانند SARS-CoV-2 در شرایط پاندمی).

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی و پایش ویروس ها

اولویت بندی تشخیص ویروس های گوارشی در آب و فاضلاب باید بر اساس الگوهای فصلی و اهمیت بهداشتی تنظیم شود. روتاویروس و نوروویروس در فصول سرد (زمستان و بهار)، هپاتیت A در تابستان، و نوروویروس در پاییز اولویت های اصلی هستند.

- **انعطاف پذیری:** پروتکل به گونه ای طراحی شده که آزمایشگاه ها بتوانند ویروس های هدف را بر اساس امکانات موجود (مانند کیت های مولکولی برای HEV یا نوروویروس) و اولویت های بهداشتی محلی انتخاب کنند.

- **پایش فصلی:** توجه به الگوهای فصلی ویروس ها (مانند افزایش نوروویروس و روتاویروس در زمستان یا HEV در فصول بارانی در مناطق مستعد) برای تنظیم برنامه نمونه برداری و تحلیل.

- **توجه به اپیدمیولوژی منطقه ای:** با توجه به شیوع بالای هپاتیت E در برخی مناطق (به ویژه در مناطقی با دسترسی محدود به آب سالم)، پایش این ویروس در اولویت قرار می گیرد.

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی ویروس ها

بخش دوم: مواد شیمیایی و تجهیزات مورد نیاز و حجم پیشنهادی نمونه

این بخش فهرست جامع مواد شیمیایی، تجهیزات و ملزومات مورد نیاز برای نمونه برداری آب و فاضلاب را ارائه می دهد. مواد و تجهیزات با توجه به روش های استاندارد جهانی (مانند روش دو فاز WHO، استانداردهای ISO، و دستورالعمل های CDC انتخاب شده اند و برای شناسایی ویروس های هدف (آدنوویروس، روتاویروس، نوروویروس و GI و GII، آنتروویروس، هپاتیت A، و در صورت لزوم SARS-CoV-2، هپاتیت E، آستروویروس، و ساپوویروس) بهینه شده اند.

۱- مواد شیمیایی برای نمونه برداری آب

۱-۱- مواد شیمیایی مورد نیاز برای نمونه برداری آب:

- هیدروکلریک اسید (HCl) ۰/۱۲، ۱/۲ و ۶ مولار (۳۷ HCl درصد تقریباً ۱۲ مولار است).

- تیوسولفات سدیم (Na₂S₂O₃) پنتاهیدرات ۲ درصد

۲-۱- معرف های مورد استفاده برای انجام تضمین کیفیت در هنگام نمونه برداری آب:

- محلول استوک برای کنترل کیفیت
- مقداری از ویروس فلج اطفال سابین نوع ۳ حاوی 50 ± 50 MPN/mL^۱ تهیه کنید و در مقادیر مساوی حاوی حدود ۱/۱ میلی لیتر در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد یا کمتر نگهداری کنید.
- محلول استوک PT/PE^۲
- ذخایر ویروس فلج اطفال سابین نوع ۳ را با سطوح مختلف بین ۳۰۰ تا ۵۰۰۰ MPN/mL تهیه کنید و در مقادیر مساوی حاوی حدود ۱/۱ میلی لیتر در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد یا کمتر نگهداری کنید.
- اسپایک ماتریس
- مقداری از ویروس فلج اطفال سابین نوع ۳ حاوی 100 ± 1000 MPN/mL تهیه کنید و در بسته های حاوی حدود ۱/۱ میلی لیتر در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد یا کمتر نگهداری کنید.
- هیدروکسید سدیم ۰/۱ مولار

^۱ Most probable number/microliter

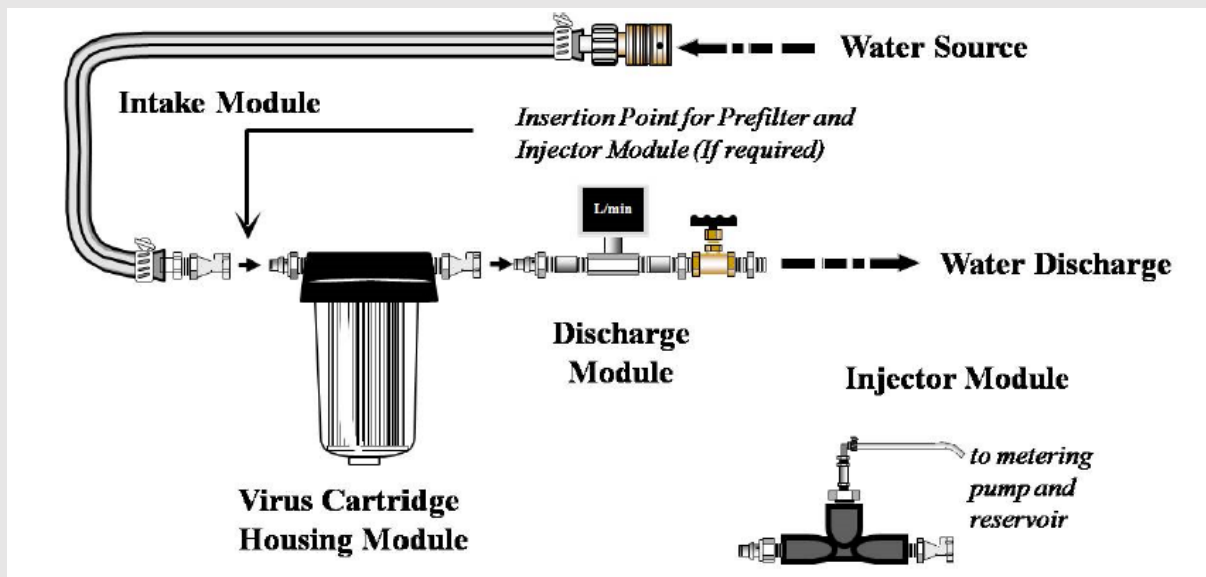
^۲ Performance test/Performance evaluation

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی و پایش ویروس‌ها

۲- تجهیزات مورد نیاز برای نمونه برداری آب

۱-۲- دستگاه فیلتراسیون نمونه آب

تصویر زیر دستگاه فیلتراسیون نمونه را نشان می‌دهد که با توجه به دستگاه ارائه شده در مطالعه Fout و همکاران (ICR Microbial Laboratory Manual; EPA/600/R-95/178) برای استفاده با فیلتر کارتریج الکتروپوزیتیو NanoCeram® اصلاح شده است؛ این اصلاح همچنین کارایی گندزدایی دستگاه قبل از فیلتراسیون را افزایش می‌دهد.



ساختار فعلی سیستم از تنظیم کننده فشار یا فشارسنج استفاده نمی‌کند، زیرا گندزدایی کردن این اجزا دشوار است و در معرض خوردگی قرار دارند؛ با این حال، آزمایشگاه‌ها مسئول اطمینان از این موضوع می‌باشند که فشار آب در محل‌های نمونه برداری از میزان فشار محفظه‌های کارتریج مورد استفاده (۱۲۰psi) تجاوز نکند.

- ماژول ورودی^۱ شامل تنظیم کننده جریان برگشتی و اجزای مربوطه

- ماژول محفظه کارتریج^۲ برای فیلترهای نانوسرام

^۱ Intake

^۲ Cartridge Housing

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی و پایش ویروس ها

- محفظه کارتریج و اجزای مربوطه

- فیلتر کارتریجی ۵ اینچی NanoCeram یا فیلتر کارتریجی ۱۰ اینچی 1MDS Virosorb

نکته: استفاده از فیلتر 1MDS مستلزم آن است که دستگاه فیلتراسیون نمونه برای استفاده با محفظه کارتریج ۱۰ اینچی اصلاح شود. برای مثال به شکل VIII-1 در مقاله Fout و همکاران (۱۸،۱) مراجعه کنید. فیلترهای ویروس نانو سرام از قبل استریل شده اند. فیلترهای 1MDS باید قبل از استفاده استریل شوند.

(۱) ماژول تخلیه^۱:

- جریان سنج (فلومتر) و اجزای مربوطه

- توتالایزر^۲

- شلنگ باغبانی در اندازه مناسب

(۲) ماژول تزریق^۳

- تانک ۱۵ گالنی (حدود ۵۰ لیتری) و اجزای مربوطه

- پمپ اندازه گیری^۴

- توجه: این ماژول فقط باید در مواردی استفاده شود که لازم باشد در طول نمونه برداری، تیوسولفات سدیم یا HCl به آب اضافه شود.

(۳) ماژول تزریق دوتایی

- دو تانک ۱۵ گالنی (حدود ۵۰ لیتری) و اجزای مربوطه

- دو پمپ اندازه گیری

- توجه: این ماژول فقط زمانی استفاده شود که لازم باشد در طول نمونه برداری، هم تیوسولفات سدیم و هم HCl به آب اضافه شود.

(۴) ماژول پیش فیلتر

- کارتریج پیش فیلتر پلی پروپیلن ۱۰ میکرومتری ۵ اینچی

^۱ Discharge

^۲ rate totalizer

^۳ Injector

^۴ metering pump

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی و پایش ویروس ها

- توجه: این ماژول برای استفاده در مورد آب هایی با غلظت بیش از 20 NTU^۱ برای فیلتر نانوسرام و بیش از 50 NTU برای فیلتر 1MDS مورد استفاده قرار گیرد.
- نکته: فیلتر نانوسرام نسبت به فیلتر 1MDS بیشتر مستعد گرفتگی است؛ بنابراین، ممکن است برای برخی از ماتریس ها، حتی زمانی که کدورت به طور قابل توجهی کمتر از 20 NTU باشد، به یک ماژول پیش فیلتر نیاز باشد.
- ه) سرهم بندی ماژول ها با استفاده از نوار تفلون
- محفظه پیش فیلتر ورودی و محفظه کارتریج را با هیپوکلریت سدیم استریل کنید.
- با استفاده از روش آسپتیک، یک کارتریج استریل NanoCeram یا 1MDS را در محفظه کارتریج و در صورت نیاز، یک کارتریج پلی پروپیلن از پیش استریل شده را در محفظه پیش فیلتر قرار دهید.
- انتهای آنها را با فویل آلومینیومی ببوشانید.

۲-۲- سایر تجهیزات و لوازم مورد نیاز برای نمونه برداری آب

- نوار تفلون
- پمپ پریستالتیک یا مقاوم در برابر مواد شیمیایی، قادر به پمپاژ آب با سرعت ۴ تا ۱۰ لیتر در دقیقه
- بطری های دهانه گشاد پلی پروپیلن یک لیتری
- pH متر، دماسنج و کدورت سنج قابل حمل
- کیت تست کلر آزاد قابل حمل
- کیسه های یخ تجاری
- دیتالاگر دما یا دماسنج مادون قرمز بصری برای اندازه گیری دمای محفظه کارتریج هنگام ورود به آزمایشگاه
- فویل آلومینیومی
- دستکش های جراحی
- ماژیک ضد آب
- همزن مغناطیسی
- میله همزن مغناطیسی

^۱ Nephelometric Turbidity Units

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی ویروس ها

- مخازن تحت فشار توزیع، با ظرفیت ۵۰ لیتر
- سانتریفیوژ یخچال دار
- شیکر اوربیتال با قابلیت چرخش ۱۶۰ دور در دقیقه
- نانودراپ
- تغلیظ کننده سانتریفیوژی Vivaspin 20 (30000 MWCO) (Sartorius-Stedim, Cat. No. VS2022)
- لوله های سانتریفیوژ پلی پروپیلن ۵۰ میلی لیتری
- میکروسانتریفیوژ، با قابلیت چرخش تا 30000 x g
- میکسر ورتکس
- جعبه سرد^۱

۳- حجم نمونه های میدانی

جدول حجم پیشنهادی نمونه های میدانی براساس نوع آب/ پساب

حجم پیشنهادی نمونه های میدانی			
نوع آب	سرعت جریان (لیتر در دقیقه)	مدت زمان نمونه برداری (ساعت)	حجم نمونه (لیتر)
پساب تصفیه شده	۱۰	۰/۲	۱۲۰ *
آب سطحی	۱۰	۰/۶	۳۶۰
آب تصفیه شده/ زیر زمینی	۱۰	۳	۱۸۰۰
آب تصفیه شده/ زیر زمینی	۴	۱۶	۴۳۲۰
* این حجم در مورد پساب تصفیه شده پیشنهاد می شود. در مورد فاضلاب خام حجم خاصی پیشنهاد نشده است.			

^۱ Cold box

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی ویروس ها

بخش سوم: نمونه برداری از آب و فاضلاب

۱- جمع آوری و انتقال نمونه

۳-۱- اقدامات کنترلی در حین نمونه برداری از آب

- استریلیزاسیون دستگاه نمونه برداری فیلتر: قبل از هر بار استفاده، باید ماژول های ورودی، محفظه کارتریج و هرگونه ماژول های انژکتور لازم و پمپ ها را شسته و سپس استریل کنند.
- فلومتر را با اندازه گیری زمان لازم برای پر شدن یک استوانه مدرج ۴ لیتری کالیبره کنید.
- دستگاه نمونه برداری (یعنی ماژول ورودی، ماژول محفظه کارتریج بدون فیلتر الکتروپوزیتیو، ماژول تخلیه) را به یک شیر آب وصل کنید و سرعت جریان را روی ۱۰ لیتر در دقیقه (یا ۴ لیتر در دقیقه) تنظیم کنید.

۳-۲- تضمین کیفیت:

- این بخش حداقل الزامات تضمین کیفیت توصیه شده را شرح می دهد.
- اگرچه سازمان ها یا نهادهایی که آزمایش با این روش را حمایت می کنند، ممکن است الزامات را بر اساس نیازهای خود تغییر دهند، اما آزمایشگاه ها تشویق می شوند که شیوه های کنترل کیفیت اضافی را که فراتر از این حداقل معیارها هستند، اعمال کنند. همه آزمایشگاه هایی که نمونه های آزمایش را با این روش تجزیه و تحلیل می کنند، باید به رویه های تعریف شده کنترل کیفیت پایبند باشند که داده های تحلیلی را که از نظر علمی معتبر هستند و دقت و ویژگی قابل قبولی را نشان می دهند، تضمین می کند.

۳-۳- نمونه های کنترل کیفیت

نکته: یک مجموعه نمونه کنترل کیفیت باید با هردسته از نمونه در نظر گرفته شود. یک مجموعه نمونه کنترل کیفیت شامل یک نمونه کنترل کیفی منفی (نمونه بلانک تجهیزات) و یک نمونه کنترل کیفی مثبت (LFB^۱) است.

- LRB^۲ (نمونه کنترل کیفی منفی/ نمونه بلانک تجهیزات)

^۱ Lab fortified blank

^۲ Lab reagent blank

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شنای ویروس ها

۱۰ لیتر آب با درجه خلوص معرف با pH ۷ تا ۷/۵ را از دستگاه فیلتر استاندارد با فیلتر الکتروپازیتیو با سرعت جریان ۱۰ لیتر در دقیقه عبور داده و مطابق با روش استاندارد آزمون بررسی کنید.

- LFB (نمونه کنترل کیفی مثبت)

به ۱۰ لیتر آب با درجه خلوص معرف با pH ۷ تا ۷/۵ مقدار ۱ میلی لیتر از ویروس فلج اطفال ساین نوع ۳ حاوی 50 ± 500 MPN/mL اضافه کنید. با همزن مغناطیسی مخلوط کرده و از دستگاه فیلتر استاندارد با فیلتر الکتروپازیتیو با سرعت جریان ۱۰ لیتر در دقیقه عبور داده و با روش استاندارد آزمون بررسی کنید.

نکته:

- نتیجه مثبت در نمونه LRB مربوط به یک دسته نمونه، به منزله عدم موفقیت در تمام نمونه های آزمایشی مرتبط با آن دسته نمونه است.
- نتیجه منفی بازیابی ویروس کنترل مثبت در نمونه LFB، به منزله عدم موفقیت در آزمون تمام نمونه های آزمایش مرتبط با آن دسته نمونه است.

۳-۴- نمونه های PT^۱ و PE^۲

- نمونه های منفی PT و PE را همانطور که برای نمونه کنترل کیفی منفی (نمونه بلانک تجهیزات) توضیح داده شده است، آماده کنید.
- نمونه های مثبت PT و PE را همانطور که برای نمونه های کنترل کیفی مثبت توضیح داده شده است، آماده کنید، به جز اینکه نمونه PT/PE مناسب (ویروس فلج اطفال ساین نوع ۳ با سطوح مختلف بین ۳۰۰ تا ۵۰۰۰ MPN/mL) را جایگزین نمونه کنترل کیفیت (ویروس فلج اطفال ساین نوع ۳ حاوی 50 ± 500 MPN/mL) کنید.
- فیلتر PT و PE را با استفاده از روش های استاندارد آزمون ارزیابی کنید. نتیجه مثبت روی نمونه PT یا PE منفی، به منزله عدم موفقیت در انجام آزمون است.

۳-۵- مجموعه نمونه LFSM/Field^۳

^۱ Performance test

^۲ Performance evaluation

^۳ Lab fortified matrix sample

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی و پایش ویروس ها

توصیه می شود که در اولین نمونه برداری از یک مکان جدید و همچنین پس از هر ۱۰ مرتبه نمونه برداری از همان مکان، یک مجموعه نمونه LFSM/Field گرفته شود. امکان تغییرات قابل توجهی در کیفیت آب، مثلاً پس از یک بارندگی، وجود دارد.

- مجموعه نمونه های LFSM/Field با جمع آوری دو نمونه میدانی در محل نمونه برداری انجام می شود که یکی از آنها نمونه میدانی معمولی و دیگری LFSM است.
- حجم مشخص از اولین نمونه از دو نمونه میدانی را جمع آوری کنید. دومین نمونه (LFSM) را با حجم مشخص منهای ۱۰ لیتر جمع آوری کنید. ۱۰ لیتر اضافی را در یک ظرف دیگر جمع آوری کنید. پس از تحویل به آزمایشگاه، ۱ میلی لیتر از اس-پا یک ماتریس (ویروس فلج اطفال سابین نوع ۳ حاوی 1000 ± 100 MPN/mL) را به ظرف ۱۰ لیتری اضافه کنید و از همان سیستم فیلتراسیون نمونه LFSM با سرعت ۴ تا ۱۰ لیتر در دقیقه عبور دهید. نتایج را با روش استاندارد آزمون ارزیابی کنید.

نکته:

غلظت ویروس از یک نمونه میدانی مثبت مرتبط با یک نمونه LFSM با بازیابی کم ممکن است کمتر از حد واقعی تخمین زده شود. نتیجه مرتبط با یک نمونه میدانی منفی ممکن است به طور بالقوه منفی کاذب باشد.

۳-۶- آماده سازی وسایل نمونه برداری میدانی آب

ملاحظات ایمنی

- افرادی که علائم تنفسی یا گوارشی دارند، نباید در طول دوره های علائم فعال، نمونه های میدانی جمع آوری کنند و نباید در هفته اول پس از آخرین علامت فعال خود، نمونه برداری کنند. نمونه گیرندگان باید درست قبل از شروع جمع آوری نمونه های میدانی، دست های خود را بشویند. آنها باید دستکش جراحی بپوشند و از شرایطی که می تواند نمونه را با ویروس آلوده کند، اجتناب کنند. دستکش ها باید پس از تماس با پوست انسان یا دست زدن به اجزایی که ممکن است آلوده باشند (مانند شیرهای آب، سایر سطوح محیطی و غیره) تعویض شوند.
- باید دقت شود که فیلترهای کارتریجی به درستی در محفظه ها قرار گرفته باشند. محفظه هایی که فیلترهای آنها به درستی قرار گرفته باشند، نشستی نخواهند داشت و فیلتر هنگام تکان دادن در داخل محفظه حرکت

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی ویروس ها

نخواهد کرد. پس از باز کردن محفظه ها در آزمایشگاه تحلیلی، فیلترها باید با بررسی و اشهرها از نظر فرورفتگی هایی که از لبه و اشرفراتر نمی روند، از قرارگیری صحیح آنها اطمینان حاصل شود.

۷-۳- روش نمونه برداری آب

۷-۳-۱- مراحل نمونه برداری

(۱) قسمت بیرونی شیر آب را با دستمال مرطوب آغشته به ماده گندزدا (Hype Wipe)، کاملاً پاک کنید. سطوح اتصال ماژول تخلیه را با پد (Hype Wipe) دیگری پاک کنید. قبل از ادامه کار، ۲ دقیقه صبر کنید.

(۲) دو تا سه دقیقه اجازه دهید که آب از شیر مورد نظر خارج شود تا هر گونه آلودگی ته نشین شده در مسیر خارج گردد.

توجه: اگر به جای شیر آب از پمپ استفاده می شود، قبل از ادامه کار، به مدت ۱۰ دقیقه پمپ را با آبی که قرار است نمونه برداری شود، تمیز کنید.

(۳) ماژول ورودی را به شیر آب یا پمپ وصل کنید.

(۴) ماژول محفظه کارتریج را در صورت اتصال، از محل اتصال سریع جدا کنید و انتهای باز آن را با فویل استریل بپوشانید.

(۵) در صورت وجود، فویل را از انتهای ماژول تخلیه جدا کرده و آن را به ماژول ورودی وصل کنید.

(۶) انتهای ماژول تخلیه یا لوله متصل به خروجی ماژول تخلیه را در یک بطری دهانه گشاد پلی پروپیلن ۱ لیتری قرار دهید.

(۷) شیر آب را به آرامی باز کنید و شیر کروی ماژول تخلیه را تنظیم کنید تا جریان سنج/توتالایزر، ۱۰ لیتر در دقیقه را نشان دهد.

(۸) مجموعه دستگاه را با حداقل ۷۵ لیتر از آبی که قرار است نمونه برداری شود، شستشو دهید.

نکته:

در حالی که سیستم در حال شستشو است، میزان کلر باقیمانده، pH، دما و کدورت آب جمع شده در بطری پلی پروپیلن ۱ لیتری و سرریز شده از آن را اندازه گیری و ثبت کنید.

(۹) شیر آب را ببندید و ماژول تخلیه را از ماژول ورودی جدا کنید.

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی ویروس ها

۳-۷-۲-تنظیم ماژول انژکتور

(۱) اگر آب مورد نمونه برداری حاوی مواد ضد عفونی کننده نیست و اگر pH آب کمتر مساوی ۹ است (در صورت استفاده از فیلتر نانوسرام) یا کمتر مساوی ۸ است (در صورت استفاده از فیلتر MSD1)، به بخش "جمع آوری ویروس" بروید.

(۲) اگر نمونه میدانی حاوی ماده ضد عفونی کننده باشد و pH آب کمتر مساوی ۹ است (فیلترهای نانوسرام) یا کمتر مساوی ۸ باشد (فیلتر MSD1):

- ماژول انژکتور را به اتصال سریع ماژول ورودی وصل کنید. ماژول تخلیه را به ماژول انژکتور وصل کنید.

- تیوسولفات سدیم ۲ درصد را از طریق انژکتور با پمپ اندازه گیری به جریان اضافه کنید. برای سرعت جریان ۴ لیتر در دقیقه به میزان ۲/۴ میلی لیتر در دقیقه و برای سرعت جریان ۱۰ لیتر در دقیقه به میزان ۶ میلی لیتر در دقیقه

- مقدار کلر را در خروجی اندازه گیری کنید. اگر کلر وجود دارد، سرعت جریان را طوری تنظیم کنید که دیگر کلر شناسایی نشود.

(۳) اگر نمونه میدانی حاوی ماده ضد عفونی کننده نباشد ولی pH آب بیشتر از ۹ است (فیلترهای نانوسرام) یا بیشتر از ۸ است (فیلتر MSD1):

- از طریق ماژول انژکتور HCl ۰/۱۲ مولار به جریان اضافه کنید و طوری تنظیم کنید که pH مایع خروجی در محدوده ۶/۵ تا ۷/۵ قرار گیرد.

(۴) اگر نمونه میدانی حاوی ماده ضد عفونی کننده باشد و pH آب بیشتر از ۹ است (فیلترهای نانوسرام) یا بیشتر از ۸ است (فیلتر MSD1):

- از طریق ماژول انژکتور دوتایی هم تیوسولفات سدیم و هم HCl به محلول اضافه کنید و در مایع خروجی حذف کلر و pH محدوده ۶/۵ تا ۷/۵ را تنظیم کنید.

۳-۷-۳-جمع آوری ویروس

(۱) محفظه کارتریج را به انتهای ماژول ورودی یا در صورت استفاده، به ماژول انژکتور یا انژکتور دوتایی وصل کنید.

(۲) ماژول تخلیه را به خروجی ماژول محفظه کارتریج وصل کنید.

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی ویروس ها

نکته:

اگر نمونه میدانی دارای کدورت بیش از 20 NTU (برای فیلترهای نانوسرام) یا کدورت بیش از 50 NTU (برای فیلترهای MSD1) باشد، ماژول پیش فیلتر را بین ماژول ورودی و ماژول انژکتور در صورت استفاده و ماژول محفظه کارتریج وصل کنید.

- ۳) اگر از انژکتور تکی یا دوگانه استفاده می شود، پمپ‌های اندازه گیری را روشن کنید.
- ۴) در حالی که محفظه فیلتر در حالت عمودی قرار دارد، شیر آب را به آرامی باز کنید تا کاملاً باز شود.
- ۵) با استفاده از قرائت های توتالایزر، حجم مشخص از آب را از دستگاه عبور دهید. (جدول حجم پیشنهادی)
- ۶) در پایان دوره نمونه برداری، جریان آب را از شیر نمونه برداری قطع کنید و دبی نهایی، تاریخ، ساعت روز، حجم کل نمونه و عدد توتالایزر را در برگه اطلاعات نمونه ثبت کنید.
- ۷) ماژول محفظه کارتریج و ماژول محفظه پیش فیلتر را، در صورت استفاده، از سایر ماژول ها جدا کنید.
- ۸) محفظه های فیلتر را وارونه کنید و اجازه دهید آب اضافی خارج شود.
- ۹) محفظه های فیلتر را به صورت عمودی بچرخانید و اتصالات را سریع با فویل آلومینیومی استریل بپوشانید.
- ۱۰) محفظه ها را داخل یک کیسه پلاستیکی مناسب بسته بندی کنید.
- ۱۱) آب را از ماژول های ورودی و خروجی و در صورت استفاده، از ماژول انژکتور تخلیه کنید. ماژول ها را در یک یا چند کیسه پلاستیکی بسته بندی کنید.

۳-۷-۴- حمل نمونه های میدانی

- ماژول های محفظه کارتریج را در یک جعبه حمل عایق بندی شده بسته بندی کنید.
- بسته های یخ را در کنار ماژول ها قرار دهید تا دمای مناسب (۱ تا ۱۰ درجه سانتیگراد) را برای انتقال فراهم کنند.
- ماژول ورودی و تخلیه را در یک جعبه دیگر عایق حمل کنید.
- جعبه حمل و نقل را به طور مناسب برچسب گذاری و آدرس گذاری کنید و در اولین فرصت به آزمایشگاه ارسال کنید.

۳-۷-۵- شرایط نگهداری نمونه در آزمایشگاه

- بلافاصله پس از رسیدن به آزمایشگاه، جعبه حمل و نقل را باز کنید.

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی ویروس ها

- دمای محفظه(های) کارتریج را اندازه گیری کنید.
- محفظه های کارتریج حاوی فیلتر و در صورت استفاده، محفظه های پیش فیلتر حاوی فیلتر را در یخچال قرار دهید.
- فوراً به روش شستشوی فیلتر بروید. در حالت ایده آل، ویروس ها باید ظرف ۲۴ ساعت از شروع جمع آوری نمونه از فیلترها شسته شوند، اما تمام فیلترها باید ظرف ۷۲ ساعت از شروع جمع آوری نمونه شسته شوند.

۴-نمونه برداری فاضلاب

۴-۱-جمع آوری و حمل نمونه فاضلاب

۴-۱-۱-معیارهای انتخاب محل نمونه برداری

- جمعیت: محل نمونه برداری باید نماینده جمعیت هدف باشد. نقاطی مانند ورودی تصفیه خانه های فاضلاب شهری، ایستگاه های پمپاژ اصلی، یا شبکه های جمع آوری فاضلاب اولویت دارند.
- جریان: نقاطی با جریان ثابت و حداقل رقیق سازی انتخاب شوند.
- حساسیت های زمانی و مکانی: محل نمونه برداری باید نشان دهنده شرایط زمانی و مکانی (مانند زمان اوج جریان یا ترکیب جمعیتی) باشد.

ثبت اطلاعات محل:

- مختصات جغرافیایی (رمزنگاری شده)، نوع فاضلاب (شهری، صنعتی، بیمارستانی).
- ثبت شرایط محیطی محل (مانند دمای هوا، بارندگی اخیر، یا وجود مواد شیمیایی خاص) برای تحلیل تأثیرات احتمالی بر غلظت ویروس ها.

۴-۱-۲-انواع نمونه فاضلاب

۴-۱-۲-۱-نمونه تکی^۱:

- زمان بندی: بهترین زمان نمونه برداری بین ساعات ۷-۹ صبح یا ۱۳-۱۵ بعدازظهر.

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی و پایش ویروس ها

- حجم: یک لیتر برای فاضلاب شهری. برای فاضلاب صنعتی با بار آلی بالا، ۵۰۰ میلی لیتر کافی است.

۴-۲-۱-۲-نمونه ترکیبی (Composite):

- روش: جمع آوری در بازه ۲۴ ساعته با نمونه گیر خودکار با فواصل زمانی منظم (هر ۲ ساعت، ۵۰ میلی لیتر).
- مزایا: شاخص بهتری از تغییرات روزانه در غلظت ویروس ها.
- حجم: یک لیتر (پس از ترکیب نمونه ها).

۴-۲-۱-۳-کنترل منفی میدانی (Field Blank):

جمع آوری ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل در محل با همان ظروف و تجهیزات برای بررسی آلودگی محیطی

۴-۲-۱-۴-کنترل مثبت میدانی:

افزودن 10^6-10^0 PFU باکتریوفاژ MS2 به یک نمونه کنترل در محل (اختیاری) برای ارزیابی کارایی جمع آوری و انتقال.

۴-۲-۱-۵-نمونه لحظه ای یا مرکب

- نمونه های Grab برای آزمایشگاه های با منابع محدود مناسب تر هستند.
- نمونه های Composite برای پایش بلندمدت توصیه می شوند.
- در شرایط بارندگی شدید، نمونه برداری Grab در چند زمان (صبح، ظهر، عصر) انجام شود تا تغییرات غلظت ویروس بررسی گردد.

۴-۲-تجهیزات جمع آوری نمونه فاضلاب

۴-۲-۱-ظروف نمونه برداری

- بطری های شیشه ای یا پلاستیکی استریل (۱-۲ لیتر)، عاری از نوکنازها، با درپوش پیچدار ضد نشت.
- استفاده از گالن های یک لیتری کتابی با پوشش پارافیلیم برای آب بندی کامل.
- ظروف باید دارای نشانگر حجم و مقاوم در برابر مواد شیمیایی فاضلاب صنعتی باشند.

۴-۲-۲-ابزارهای نمونه برداری:

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی ویروس ها

- برای نمونه‌های لحظه ای پمپ دستی، سطل استریل متصل به طناب یا میله تلسکوپی استریل
- برای نمونه‌های مرکب Composite نمونه‌گیر خودکار با لوله‌های سیلیکونی استریل.

۴-۲-۳- تجهیزات حفاظت فردی

- دستکش‌های یک‌بار مصرف نیتریل (دو لایه برای فاضلاب صنعتی)، ماسک N95، عینک ایمنی، روپوش مقاوم به مواد شیمیایی، و چکمه‌های ضد آب.
- برای فاضلاب‌های بیمارستانی یا صنعتی با خطر زیستی بالا، استفاده از ماسک‌های تمام‌صورت یا سیستم‌های تنفسی فیلتردار توصیه می‌شود.
- استفاده از گیره استریل برای جابه‌جایی ظروف و کاهش تماس مستقیم با فاضلاب.

۴-۲-۴- تجهیزات جانبی:

- دماسنج دیجیتال برای ثبت دمای محل نمونه‌برداری.
- کاغذهای نشانگر pH برای بررسی اولیه pH فاضلاب (بهبود: ۷/۰ تا ۷/۵).
- ظروف اضافی برای نمونه‌های تکراری یا کنترل‌های میدانی.

۴-۳- روش جمع‌آوری نمونه فاضلاب

مراحل:

۱. محل نمونه‌برداری را بررسی کنید و از ایمنی محیط (عدم وجود مواد خطرناک یا شرایط ناایمن) اطمینان حاصل کنید.
۲. نمونه را از عمق ۱۰-۳۰ سانتی‌متری سطح فاضلاب جمع‌آوری کنید تا از رسوبات سنگین یا لایه‌های سطحی (مانند چربی) اجتناب شود.
۳. ظرف را تا ۸۰٪ ظرفیت (۱ لیتر برای فاضلاب شهری، ۵۰۰ میلی‌لیتر برای فاضلاب صنعتی) پر کنید.
۴. درپوش پیچ‌دار را محکم ببندید و با پارافیلیم آب‌بندی کنید.
۵. برچسب نمونه شامل کد شناسایی، تاریخ، زمان، محل (کدگذاری‌شده)، نوع فاضلاب، و نام و آدرس درخواست‌کننده را الصاق کنید.
۶. نمونه کنترل منفی میدانی (آب مقطر استریل) و در صورت امکان کنترل مثبت میدانی (MS2) را با همان روش جمع‌آوری کنید.

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی ویروس‌ها

۷. سمت بیرونی بطری را با گاز استریل تمیز کنید تا از آلودگی متقاطع جلوگیری شود.

-ملاحظات اضافی:

- در فاضلاب‌های با کدورت بالا، نمونه را به آرامی جمع‌آوری کنید.
- در صورت وجود مواد شیمیایی خطرناک مانند اسیدها یا قلیاها، pH را در محل بررسی و با بافر (مانند PBS) تنظیم کنید.

۳-۵- شرایط انتقال نمونه فاضلاب به آزمایشگاه

۳-۵-۱- شرایط نگهداری

- دما: نمونه‌ها باید بلافاصله پس از جمع‌آوری در دمای 2 ± 4 درجه سانتی‌گراد (با استفاده از کیسه‌های یخ یا جعبه‌های خنک‌کننده عایق) نگهداری و منتقل شوند تا از تغییرات میکروبی جلوگیری شود.
- نگهداری بلندمدت: در صورت تأخیر در انتقال یا پردازش، نمونه‌ها می‌توانند تا ۷۲-۴۸ ساعت در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد (فریز شده) نگهداری شوند، بدون انجماد مکرر (برای حفظ یکپارچگی ویروس‌ها).
- زمان انتقال: حداکثر ۸ ساعت (ترجیحاً ظرف ۶ ساعت) از زمان نمونه‌برداری تا دریافت در آزمایشگاه، با حفظ زنجیره سرد. در موارد استثنایی و با مستندسازی، تا ۲۴ ساعت قابل قبول است.

۳-۵-۲- حفاظت فیزیکی:

- ظروف نمونه در کیسه‌های پلاستیکی دو لایه ضد نشت قرار گیرند.
- جعبه‌های انتقال مجهز به لایه‌های محافظ (فوم یا مواد جاذب شوک) و عایق حرارتی باشند.
- نمونه‌ها از تابش مستقیم نور خورشید و تغییرات شدید دما محافظت شوند (ترجیحاً در تاریکی نگهداری گردند).

۳-۵-۳- شرایط انتقال

- انتقال بین استانی:

- استفاده از وسایل نقلیه مجهز به یخچال یا یخدان قابل حمل با کیسه‌های یخ.

- ثبت زنجیره سرد شامل نام انتقال دهنده، زمان خروج و ورود، دمای جعبه انتقال، و امضای مسئول دریافت.

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی ویروس ها

- ایمنی انتقال: پرسنل انتقال نمونه باید آموزش دیده باشند.

ملاحظات:

- در مسیرهای طولانی (بیش از ۶ ساعت) از جعبه های خنک کننده با باتری استفاده شود.
- برنامه اضطراری برای شرایط غیرعادی (مانند خرابی و سیله نقلیه) شامل یخدان های یدکی یا تحویل به آزمایشگاه نزدیک اجرا شود.

۳-۵-۴- کنترل کیفیت در انتقال

۳-۵-۴-۱- معیار پذیرش در آزمایشگاه :

- دمای نمونه هنگام دریافت $3-5^{\circ}\text{C}$ با دماسنج بررسی شود.
- ظرف نمونه سالم، بدون نشتی، و با برچسب کامل شامل کد شناسایی، تاریخ، زمان، محل، و نام درخواست کننده.
- نمونه کنترل منفی میدانی و کنترل مثبت میدانی (در صورت استفاده) همراه نمونه ها دریافت شود.

۳-۵-۴-۲- رد نمونه:

- نمونه هایی که در دمای بالاتر از 6°C ، با تأخیر بیش از ۸ ساعت یا ۴۸-۷۲ ساعت در 20°C یا با ظروف آسیب دیده رد می شوند.
- گزارش رد نمونه با جزئیات به مسئول نمونه برداری ارسال شود.

۳-۵-۴-۳- ثبت اطلاعات نمونه:

- ثبت تاریخ، زمان نمونه برداری، دمای نگهداری، و شرایط انتقال در برگه های آزمون
- برگه های آزمون باید بلافاصله پس از نمونه برداری تکمیل شوند.

۳-۵-۴-۴- دریافت نمونه:

- پذیرش نمونه ها اولین گام در زنجیره پایش است و برای اطمینان از کیفیت نمونه و جلوگیری از خطاهای بعدی ضروری است.

- فیلترهای نمونه برداری آب در دمای مناسب به آزمایشگاه منتقل شوند.

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی ویروس ها

- نمونه های فاضلاب (۵۰۰ میلی لیتر تا ۱ لیتر فاضلاب خام، Grab یا Composite) در ظروف استریل پلی پروپیلن یا شیشه ای در دمای ۴ درجه سانتی گراد به آزمایشگاه منتقل شوند.

۳-۵-۴-۵- برچسب گذاری:

هر نمونه باید دارای برچسب با اطلاعات زیر باشد:

- کد شناسایی منحصر به فرد (مانند S1-1404/05/07)

- تاریخ و زمان نمونه برداری.

- محل نمونه برداری (مثلاً تصفیه خانه A، بیمارستان B).

- نوع آب یا فاضلاب (شهری/صنعتی).

- شرایط فیزیکی: بررسی یکپارچگی ظرف (عدم نشتی)، دمای نمونه (4°C) و حجم نمونه.

- کنترل منفی میدانی (Field Blank): بررسی حضور نمونه آب مقطر استریل جمع آوری شده در محل برای کنترل آلودگی.

دستور عمل نمونه برداری از آب و فاضلاب برای شناسایی ویروس‌ها

مراجع

۱. EPA Method 1615 (2015). "Measurement of Enterovirus and Norovirus Occurrence in Water by Culture and RT-qPCR." United States Environmental Protection Agency.

- Link: <https://www.epa.gov/cwa-methods/method-1615-measurement-enterovirus-and-norovirus-occurrence-water-rt-qpcr>

۲. WHO Guidelines for Environmental Surveillance of Viruses (2003, updated 2020). "Guidelines for Environmental Surveillance of Poliovirus Circulation." World Health Organization.

- Link: <https://www.who.int/publications/i/item/guidelines-for-environmental-surveillance-of-poliovirus-circulation>

۳. ICR Microbial Laboratory Manual; EPA/600/R-95/178

۳. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۸۶). کیفیت آب - نمونه برداری از آب برای آزمون‌های میکروبیولوژیکی - آیین کار (استاندارد ملی ایران شماره ۴۲۰۸، تجدیدنظر اول). سازمان ملی استاندارد ایران.