

## Gripi/linnugripi haige uurimismaterjali võtmise, säilitamise ja transportimise juhend

Viirused on rakusisesed parasiidid ja seetõttu nende määramiseks on vajalik, et uuritav materjal (kaabe või sekreet) sisaldaks nakatunud rakke.

Respiratoorse viirusinfektsioonide korral algab viiruse eritumine sageli 1 päev enne haigustunnuste ilmnemist, eritumine on intensiivne esimese kahe-kolme haiguspäeva vältel ja pärast seda langeb järsult.

### Gripi laboratoorse diagnoosi kinnituse kriteeriumid ja uuritava materjali võtmise aeg

#### *Kinnitatud diagnoos*

- \_ Gripi viiruse antigeeni avastamine või viirusspetsiifilise RNA tuvastamine (1.–5. haiguspäeval võetud uurimismaterjalist) või
- \_ gripi viiruse isoleerimine (1.–3. haiguspäeval võetud) kliinilisest uurimismaterjalist või
- \_ vähemalt 4-kordne A- või B-gripi viiruste antikehade tiitri tõus paarisserumites.

#### *Tõenäoline diagnoos*

- \_ A- või B-gripi viiruste antikehade kõrge tiiter ühes vereseerumi proovis.

### Virulentsete linnugripi viiruste poolt põhjustatud gripi laboratoorse diagnoosi kinnituse kriteeriumid ja uuritava materjali võtmise aeg (A/H5N1 näitel)

*A(H5N1) – gripi kinnitatud laboridiagnoos* (1 või mitu positiivset laboritesti tulemust)

- \_ A/H5-gripi viiruse isoleerimine (1.–5. haiguspäeval võetud kliinilisest materjalist),
- \_ A/H5-gripi viiruse nukleiinhappe positiivne RT-PCR leid (1.–7. haiguspäeval),
- \_ immunofluorestsentsmeetodiga (IF) A/H5 antigeeni positiivne leid H5 monoklonaalsete antikehadega (1.–7. haiguspäeval),
- \_ A/H5-spetsiifiliste antikehade tiitri vähemalt 4-kordne tõus paarisserumites (esimene seerum 1.–7. haiguspäeval ja teine seerum paranemisperioodis alates 14. haiguspäevast).

*A(H5N1) gripi tõenäoline laboridiagnoos*

- \_ Kliiniliste testide positiivsed tulemused,
- \_ viroloogilise testi positiivne tulemus (gripi viiruse antigeense struktuuri määramiseta),
- \_ positiivne H5-antikehade leid ägeda staadiumi vereseerumis.

*A(H5N1) – gripi kahtlane laboridiagnoos*

- \_ Kliinilised laboriuuringud: röntgeniuuring, vereuuring lümfopeeniale, maksa funktsionaalsed testid (negatiivsed või piiripealsed).

## HAIGEMATERJALI PROOVIDE LIIGID JA ETTEVAATUSABINÕUD NENDE VÕTMISEL

Respiratoorse viiruste **laboratoorse diagnoosi tulemust mõjutavad** oluliselt:

- proovi hea kvaliteet,
- proovi kiire laborisse toimetamine,
- proovi nõuetekohane säilitamine enne selle uurimist,
- proovi võimalikult kiire töössevõtmine laboris.

**Ülemiste hingamisteede viirusinfektsioonide** laboratoorseks diagnoosimiseks võetakse järgmisi haigematerjali proove:

- ninakaabe,
- ninaneelukaabe,
- ninaneeluaspiraati,
- nina loputus,
- kurgukaabe.

**Alumiste hingamisteede viirusinfektsioonide** laboratoorseks diagnoosimiseks võetakse invasiivsete protseduuride abil järgmisi kogutavaid materjale:

- transtrahheaalne aspiraatsioon,
- bronhoalveolaarne lavaaz, bronhiloputus
- kopsubiopsia,
- lahangumaterjal (kopsu- ja trahheakude).

**Linnugripi diagnoosimiseks inimesel** on eelistatavad proovid järgmised:

- ninaneeluaspiraatsioon (ninaneeelusekreet), bronhoalveolaarne sekreet, bronhiloputus, endotrahheaalne aspiraatsioon
- paarisserumid.

Gripiviirusele uuritava materjali võtmisel tuleb **järgida standardseid ettevaatusabinõusid ning kasutada isikukaitsevahendeid.**

Väga virulentsete A(H5N1)-linnugripiviiruste poolt põhjustatud infektsiooni kahtluse korral **kannab proovivõtja suure kaitseefektiivsusega maski või FFP-3 respiraatorit, kaitseprille (näokaitset), kaitsekitlit ja kindaid.** Proovivõttu ei alustata enne, kui on selge, millised on kasutatud isikukaitsevahendite dekontaminatsiooni võimalused ja millised on kätepesu/desinfitseerimisvõimalused.

Enne protseduuri alustamist tuleb **selgitada patsiendile** protseduuri käiku. Proovivõtja vilumus on eelduseks, et patsient tunneb end proovivõtmise ajal turvaliselt.

Hingamisteedest võetud uuritav materjal asetatakse kohe **viirustransportsöötmesse** ja transporditakse selles. Anumad, millesse proov on võetud (tavaliselt transportsöötmega konteiner) **suletakse kindlalt ja märgistatakse** patsiendi nime/ID numbriga.

#### **NINAKAABE**

Eesmärk: saada mõlemast ninakäigust viirusega nakatunud epiteelrakke või limaskestalt irdunud rakke ninasekreedist.

Protseduuri eelselt tuleb vajadusel nina nuusata või puhastada.

Proovi võtmiseks sobivad plastmass(puu)varrega polüester-, dakron- või vatitampoonid.

1. Ninaots tõstetakse üles ja kuiv tampoon viiakse ninasõõrmest sisse, paralleelselt suulaega, suunaga veidi üles, lapsel 1–2 cm sügavusele ja täiskasvanul 3–5 cm sügavusele.

2. Seejärel hoitakse tampoon mõned sekundid paigal, et ninasekreet saaks imbuda ja järgnevalt roteeritakse tampooni tugevalt vastu alumise ninakarbiku seina, et eemaldada nina limaskestalt viirusega nakatunud epiteelrakke.

3. Sama protseduuri korratakse sama tampooniga teises ninakäigus.

4. Tampoon eemaldatakse ninast, selle vars murtakse lühemaks ja tampoon asetatakse viirustransportsöötmesse.

5. Kui viirustransportsöödet ei ole ja proovi võtmiseks kasutati Eurotube katsuti tampooni, siis see pannakse tagasi Eurotube katsutisse ja lisatakse 1 ml füsioloogilist lahust.

### NINANEELUKAABE

Eesmärk: saada viirusega nakatunud epiteelrakke ninast või neelusekreeti irdunud rakke.

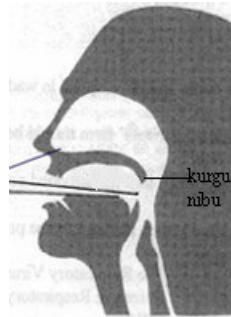
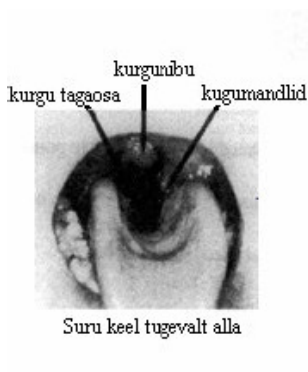


Proovi võtmiseks sobivad painduva (aga ka puu- või plastmass)varrega polüester-, dakron- või vatitampoonid.

1. Painduva peenikese varrega tampoon viiakse ninasõõrmest sisse kuni takistuse tekkimiseni (ninaneelu) ja jäetakse paigale mõneks sekundiks. Seejärel tampoon tõmmatakse aeglaselt välja roteerivate liigutustega.
2. Sama korratakse läbi teise ninakäigu.
3. Tampooni vars murtakse lühemaks ja tampoon asetatakse viirustransportsöötmesse.

### NINAKAABE + KURGUKAABE

Eesmärk: saada viirusega nakatunud epiteelrakke ninast, tonsillidelt ja kurgu tagaseinalt või neelusekreeti irdunud rakke.



Proovi võtmiseks on vaja kahte painduva (aga ka puu- või plastmass)varrega polüester-, dakron- või vatitampooni.

1. Ninaots tõstetakse üles ja kuiv tampoon viiakse ninasõõrmest sisse, paralleelselt suulaega, suunaga veidi üles, lapsel 1–2 cm sügavusele ja täiskasvanul 3–5 cm sügavusele.

Seejärel hoitakse tampoon mõned sekundid paigal, et ninasekreet saaks imbuda ja järgnevalt roteeritakse tampooni tugevalt vastu alumise ninakarbiku seina, et eemaldada nina limaskestalt viirusega nakatunud epiteelrakke.

Sama protseduuri korratakse sama tampooniga teises ninakäigus.

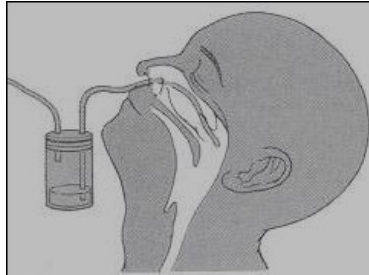
Tampoon eemaldatakse ninast, selle vars murtakse lühemaks ja tampoon asetatakse viirustransportsöötmesse.

2. Patsiendil palutakse “näidata kurku”, surutakse spaatliga keel alla ning teise kuiva tampooniga võetakse materjali kurgu tagaseinalt ja tonsillidelt, vältides tampooni kokkupuudet suulae, keele ja põskede limaskestaga. Tampooni vars

murtakse lühemaks ja tampoon asetatakse transportsöötmesse.  
Veendutakse, et transportsöötmega proovianum on tihedalt suletud ja ei leki.

### NINANEELUASPIRAAT

Eesmärk: saada viirusega nakatunud epiteelirakke kurgu tagaseinalt või neelusekreeti (limasse) irdunud rakke.



NB!: uuritava materjali kogumise meetodika võib esile kutsuda nina veritsemist, seepärast ei ole seda soovitatav kasutada hüübimishäiretega patsientidel. Selline uuritava materjali kogumine sobib hästi väikelastele, kuna neil sekreedi tootmine respiratoorsete viirusinfektsioonide korral on suur.

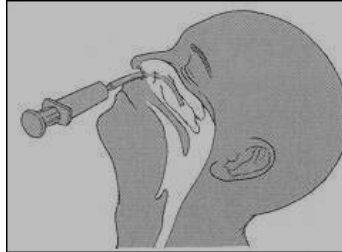
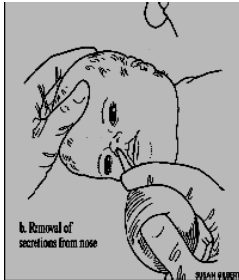
1. Ninaneelusekreedi kogumiseks kasutatakse kinnist aspiratsioonisüsteemi (elektrilise/käsitsi reguleeritava vaakumpumbaga ühendatud kateetrit).
2. Patsient istub kergelt kuklasse kallutatud peaga, väikelast hoitakse süles.
3. Kateeter viiakse ninasõõrmest sisse suulaega paralleelselt, lapsel 3–4 cm sügavusele, täiskasvanul 4–6 cm sügavusele. Aspireeritakse ja kateeter eemaldatakse aeglase roteeriva liigutusega ninakäigust.
4. Sama kateetriga korratakse protseduuri teises ninakäigus.
5. Pärast seda, kui lima on kogutud mõlemast ninakäigust, kateetrit voolutatakse 3ml transportsöötmega.

Kui patsiendil limaeritus on vähene või puudub, siis:

1. Patsient istub kergelt kuklasse kallutatud peaga, väikelast hoitakse süles.
  2. Kateeter viiakse ninasõõrmest sisse suulaega paralleelselt lapsel 3–4 cm sügavusele, täiskasvanul 4–6 cm sügavusele.
  3. Aspireeritakse, aspiratsioonitoru jäetakse paigale 15–30 sekundiks, vaakumpumbast indutseeritud õhuvoolud võivad soodustada limaeritust.
  4. seejärel jätkata nagu eespool kirjeldatud või
  5. viia ühte ninakäiku süstla abil 0,5–2 ml steriilset füsioloogilist lahust
  6. aspireerida see vedelikukogus tagasi,
  7. korrata sama teises ninakäigus.
- NB! Seda protseduuri ei soovitata teostada patsientidel, kellel esineb aspiratsioonioht.

## NINALOPUTUSVEDELIK

Eesmärk: saada mõlemast ninakäigust nakatunud epiteelirakke ja sekreeti.



1. Patsient on lamavas või istuvas asendis, pea kergelt taha kallutatud (vajadusel ütleb K-tähte, et vältida aspiratsiooni) ja tal palutakse hinge kinni hoida vedeliku ninna viimise ajaks.
2. Nina loputamiseks kasutatakse füsioloogilist lahust, mis peab olema soojenenud toatemperatuurini pärast selle külmkapist väljavõtmist.
- 3.1. Pipetiga või süstlaga viiakse ninakäiku 1–1,5 ml loputusvedelikku. Seejärel patsient kallutab pea ette ja laseb loputusvedelikul ninast välja valguda kas proovianumasse või Petri tassile.
- 3.2. Kateeter viiakse ninaneelu, süstitakse loputusvedelikku, seejärel koheselt tõmmatakse materjal süstlasse tagasi.
- 3.3. Pipeti või süstlaga viiakse ninna loputusvedelikku ja koheselt eemaldatakse materjal vaakumpumbaga.
4. Sama protseduuri korratakse kuni mõlemat ninakäiku on loputatud kokku 10–15 ml füsioloogilise lahusega (2 loputuskorda mõlemast ninakäigust).
5. Umbes 3 ml kogutud loputusvedelikku panna transportsöötmesse.
6. Proovinõu korgitakse, märgistatakse ja saadetakse laborisse

## KURGUKAABE

Eesmärk: saada nakatunud epiteelirakke ja sekreeti tonsillidelt ja neelu tagaseinalt. NB! patsiendil võib tekkida okserefleks.

Proovi võtmiseks sobivad plastmass(puu)varrega polüester-, dakron- või vatitampoonid, keele allavajutamiseks on vajalik spaatel.

1. Patsient on istuvas asendis, pea kergelt kuklasse kallutatud ja tal palutakse suu pärani lahti teha.
2. Keel vajutatakse spaatliga alla.
3. Mõlemalt tonsillilt ja neelu tagaseinalt (üles-alla, vasakult-paremale) võetakse jõuliste liigutustega kaabe,
4. tampooni eemaldamisel välditakse keele, suulae ja põskede limaskesta puudutamist,
5. tampoon asetatakse transportsöötmesse, selle vars murtakse lühemaks, proovivõtunõu korgitakse ja märgistatakse.

## BRONHO-ALVEOLAABNE LAVAAZ; BRONHILOPUTUS

Eesmärk: saada viirusega nakatunud rakke alumiste hingamisteede sekreedist.

Bronhoskoopia ajal süstitakse füsioloogilist lahust bronhiaalpuusse ja eemaldatakse seejärel vedelik koos bronhiaalsekreediga. Materjal võetakse ühekordselt kasutatavasse tihedalt suletavasse umbes 50 ml-se mahuga katsutisse.

### **TRANSTRAHHEAALNE ASPIRAAT**

Eesmärk: saada viirusega nakatunud rakke trahhea sekreedist (limast).  
Trahhea aspiratsioonil saadud sekreet (lima) saadetakse laborisse suletud katsutis/transportsöötmes.

### **VERESEERUM**

Eesmärk: saada materjali kas IgM sedastamiseks ja/või paarisseerumites antikehade tiitri määramiseks.  
Ägeda faasi seerum (3–5 ml täisverd) võetakse kohe (mitte hiljem kui 7 päeva) pärast haigustunnuste ilmnemist.  
Teine seerumiproov võetakse alates 14-ndast haiguspäevast (2...4-ndal haigusnädalal).  
Kui patsient on suremas, sel juhul püütakse teine seerumiproov võtta enne surma.  
Kuigi üksik seerumiproov ei võimalda kinnitada diagnoosi konkreetsele patsiendil, kui see on võetud hiljem kui 2 nädalat pärast haiguse algust, on sellest siiski abi linnugripiviiruste vastaste (või uue pandeemilise gripiviiruse vastaste) antikehade sedastamiseks neutralisatsioonitesti abil.

### **SAATEKIRJA KOOSTAMINE**

Iga prooviga peab kaasas olema saatekiri, millel on:

- patsiendi andmed,
- arsti nimi ja kontaktelefon,
- uuritava materjali nimetus, selle võtmise kuupäev, mitmendal haiguspäeval võetud,
- uuringu eesmärk,
- linnugripi kahtluse korral märke (A/H5N1)-gripp?),
- kliinilised andmed.

### **KLIINILISTE PROOVIDE TRANSPORTIMINE**

#### **PROOVIDE SÄILITAMINE PÄRAST NENDE VÕTMIST**

Proove, mis on võetud viirusantigeenide sedastamiseks nakatunud rakkudes, tuleb säilitada +2...8\_C temperatuuri juures (külmiku tavaosas, transpordi ajal külmelemendiga) ja töödeldud soovitatavalt 1-2 tunni (1-2 päeva) jooksul.  
Uuringuks "patsiendi voodi kõrval tehtava" kiirtesti abil tuleb proovi hoida kooskõlas testi tootja poolt antud juhistega.  
Uuritav materjal viiruse isoleerimiseks tuleb asetada kohe pärast võtmist külma (või külmelemendi peale) ja inokuleerida vastuvõtlikule rakukultuurile nii kiiresti kui võimalik.  
Kui proove ei ole võimalik töödelda 48–72 tunni jooksul, siis tuleb neid säilitada kas –70\_C (või veel madalama) temperatuuri juures.  
Proovide korduv sulatamine-külmutamine ei ole lubatud, sest see vähendab viiruse infektsioossust.  
Seerumiproove võib säilitada +4\_C juures nädala, pärast seda tuleb need külmutada –20\_C juures.  
NB! Gripiviirusele võetud proove ei tohi säilitada kuival jääl ilma, et proovid oleksid kindlalt suletud (teibitud) klaasnõudes ja kahekordses plastikkotis, kuna süsihappegaas inaktiveerib gripiviirused kiiresti.

### **PROOVIDE TRANSPORTIMINE**

Nakkusohtlike materjalide veol tuleb järgida Sotsiaalministri 31. oktoobri 2003. a määruse nr 119 "Nakkusohtliku materjali käitlemise kord" (RTL, 2003, 115, 1831) nõudeid.

#### **Proovide riigisisene vedu**

\_ Nõutav on kahekordne pakend.

- \_ Esimene pakend on purunematu lekkekindel proovianum, mis sisaldab proovi.
- \_ Teine pakend on vastupidav vee- ja lekkekindel tihedalt suletav proovianum või plastikkott (gripkott).

Proovi sisaldav esimene konteiner pakitakse teise konteinerisse (gripkotti) selliselt, et need on ümbritsetud absorbeeriva materjali (nt ligniini, paberkäterätiku vms) küllaldase kogusega, mis proovianuma purunemise korral suudab endasse imeda kogu selle sisu.

- \_ Transpordivahendis peab olema komplekt, mis sisaldab absorbeerivat materjali ja soovitatavalt kloorisisaldusega desinfektanti, lekkekindlat jäätmekonteinerit ja tugevaid korduvkasutatavaid kummikindaid.

\_ Materjali, mis võib sisaldada väga virulentset A(H5N1)-linnugripiviirust, saadetakse laborisse) kulleriga. Proovi vedav töötaja on instrueeritud, kuidas proovi ohutult käsitseda ja kuidas läbi viia dekontamineerimist proovipakendi purunemisel või lekkimisel.

### **Proovide saatmine välismaale**

Enne proovi saatmist tuleb kavatsusest teatada laborisse, kuhu proov saadetakse ja saada laborilt suuline nõusolek proovi vastuvõtuks.

- \_ Nõutav on proovi kolmekordne pakendamine.

\_ Esimene pakend on purunematu lekkekindel proovianum, mis sisaldab proovi ja on ümbritsetud absorbeeriva materjali küllaldase kogusega, et proovianuma võimalikul purunemisel imada kogu vedelik.

\_ Teine pakend on vastupidav vee- ja lekkekindel proovianum, millesse paigutatakse üks või mitu esimest pakendit.

\_ Kolmas pakend ehk väline veopakend on tugev lekkekindel, tihedalt suletava kaanega plast- või metallkonteiner, mis peab kaitsma veo ajal teist pakendit ja selle sisu välise kahjustuse eest.

Saatekiri ja muu vajalik informatsioon kinnitatakse teise pakendi välisküljele (soovitatavalt kileümbrikus).

\_ Veopakendi märgistus ja saatedokumendid koostatakse vastavuses **IATA 2005** (või antud aastal kehtiva väljaande) eeskirjadega.

Diagnoosi või uurimistöö eesmärgil saadetakse linnugripiviirust sisaldada võivad proovid klassifitseeritakse kui **UN 3373 Diagnostilised proovid** ja need pakendatakse vastavuses **pakendamisjuhise PI 650ga**. Õhustranspordi kasutamise korral paki väikseim lubatud küljepikkus on 10 cm. Välispakend ei tohi olla mahukam kui 4 l vedelike korral ja raskem kui 4kg tahkete materjalide korral. Välispakendil peab olema märgistus Overpack.

Pakendile peavad olema märgitud proovi/pakendi saaja ning saatja aadressid ja muud kontaktandmed.

Koostaja: TKI Tallinna Ühendlabori Viroloogia Kesklabor