

Enterovīrusu izraisīto infekciju diagnostikas algoritms

Enterovīrusi ir maza izmēra (\emptyset viriona 20-30 nm) RNS saturoši vīrusi no Enterovirus ģints, pikornavīrusu (*Picornaviridae*) dzimtas. Sākotnēji tie bija iedalīti piecās grupās: poliovīrusi, Koksaki A vīrusi, Koksaki B vīrusi, ehovīrusi un entero neklasificēti (Entero 68,70,71, 90.). Mūsdienās tos klasificē pēc genoma atšķirībām - kapsīda proteīna VP1 nukleīnskābju secības. EV iedalīti četrās ģenētiski atšķirīgās grupās: A, B, C un D cilvēka EV grupas, kas apvieno vairāk nekā 90 enterovīrusu serotipus (2). Enterovīrusu izraisītās saslimšanas raksturojas ar plašu klīnisko ainu no smagiem CNS bojājumu simptomiem, ieskaitot AŠP (akūta šļaugana paralīze) un parēzi, līdz vieglākām respiratorā trakta saslimšanām. Daļa no ne-polio enterovīrusiem spēj izraisīt aseptisko meningītu uzliesmojumus, kā arī tādas saslimšanas kā roku, kāju, mutes saslimšana (HFMD –hand-foot-mouth disease), miokardīts, perikardīts, neonatālā sepse, virusālas dabas konjunktivīts. Viens vīrusa serotips var izraisīt dažādus klīniskos sindromus, savukārt, atsevišķu klīnisko sindromu var izraisīt dažādi enterovīrusi.(2) Plašais izraisītāju spektrs un daudzveidīgā klīniskā aina apgrūtina diagnozes noteikšanu, līdz ar to ir ļoti svarīga laboratoriskā diagnostika. Enterovīrusu (EV) klātbūtnes noteikšanai un identifikācijai tiek izmantoti sekojoši klīniskie materiāli (2;3;4) :

Izkārnījumi. Pirmās izvēles materiāls pie visiem EV izraisītiem sindromiem, ieskaitot arī respiratoru saslimšanu, konjunktivītus un EV ādas formas. Pie aizdomām par EV infekciju, paraugus optimāli ir jāņem pirmajās dienās kopš klīnisko simptomu parādīšanās brīža, taču vīrusus no izkārnījumiem izdalās pat līdz vienam mēnesim, ilgstošāk kā no citiem klīniskiem materiāliem. Akūtas šļauganās paralīzes gadījumā jāņem divus paraugus ar 24-48 stundu intervālu (4). Parauga ņemšanai izmanto sterilu trauku (10-15 ml) ar uzskrūvējamu vāciņu vai speciālu fekāliju savākšanas konteineru ar karotīti un uzskrūvējamu vāciņu (bez transporta barotnes!).

Rīkles gala un deguna eju /nazofaringeāla iztriepe. Paraugu ņemt 1. - 4.slimības dienai, kad vīrusu daudzums elpceļu epitēlija šūnās, kur notiek primāra EV replikācija, ir maksimāls. Noņemšanas veids sk. <https://www.aslimnica.lv/lv/saturs/nacionala-mikrobiologijas-references-laboratorija>. Enterovīrusus EV-D68 un EV-A71 rekomendē noteikt respiratora trakta paraugos, retāk izkārnījumos.

Cerebrospinālais šķidrums. Cerebrospinālo šķidrumu ņņem sterilā stobriņā **pieaugušajiem 1-4ml, bērniem 0,5 – 1,0 ml**. Materiālu jāņem ne vēlāk par 4. slimības dienu (izņēmuma gadījumos - ne vēlāk par 7. dienu). CNS paraugos EV klātbūtne ir nepastāvīga, līdz ar ko šis materiāls nav noteicošs vīrusa identifikācijā encefalītu gadījumos. (5; 6).

Asinis EDTA Enterovīrusu RNS kvalitatīvai noteikšanai. Venozo asins paraugu ņemšanai izmantot vienreizējās sistēmas, kas paredzētas asins ņemšanai (monovetes, vakutaineri u.tml.) ar K3 EDTA pieaugušajiem 3,5 - 7.5ml, bērniem 1,2 – 3,5ml apjomā atbilstoši ražotāja rekomendācijām. Pēc asins ņemšanas rūpīgi samaisīt paraugu ar antikoagulantu, lai nepieļautu recekļa izveidošanos.

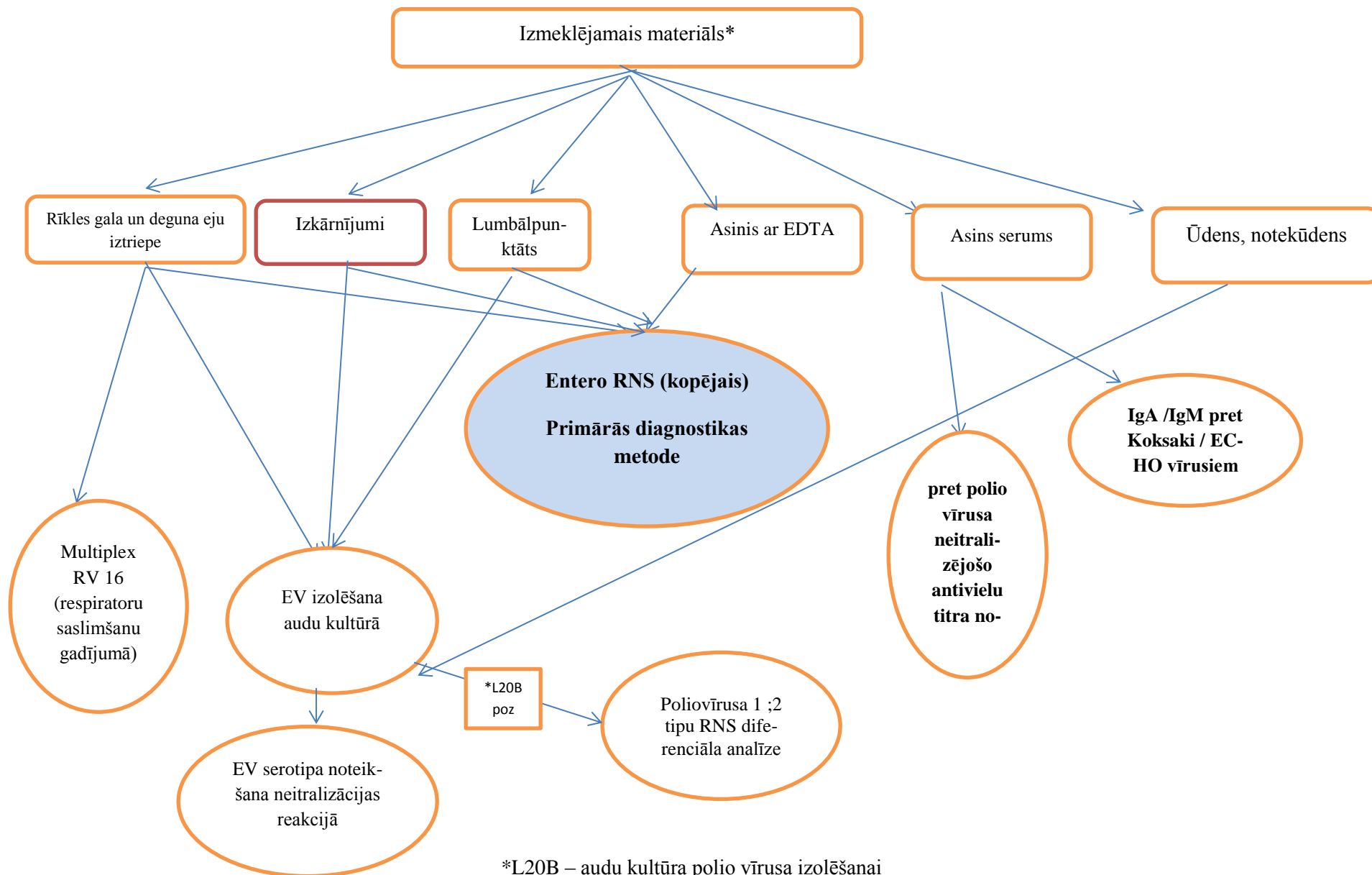
Asins serums Parauga ņemšanai izmanto vakuuma stobriņus/stobriņus bez konservantiem, no vēnas aseptiski ņem asinis (4-6 ml); savākto materiālu 1 stundu patur istabas temperatūrā un pēc tam glabā no +2⁰C līdz +8⁰C, ne ilgāk par 48 stundām. Ja nav iespējams ātri nogādāt paraugu laboratorijā, obligāti sterili atdala serumu. Atdalīto serumu pārnes tīrā plastmasas stobriņā ar vāciņu. Šādā veidā to var uzglabāt līdz transportēšanai temperatūrā no +4⁰C līdz +8⁰C līdz piecām dienām. Hemolītisks, lipēmisks vai bakteriāli piesārņots serums nav derīgs seroloģiskajām reakcijām. Siltā laikā paraugi jātransportē atdzesētā termālā somā.

Vides paraugi: notekūdeni, ūdens krātuves, dzeramais ūdens. Polio vīrusu cirkulācijas kontrolei vides paraugos. Valsts un PVO deleģētā funkcija - no savvaļas un vakcīnas polio vīrusa brīvas valsts statusa nodrošināšanas un saglabāšana. Paraugus piegādā Slimību profilakses un kontroles centrs pēc plāna vai pēc epidemioloģiskiem norādījumiem.

Izmeklējamais materiāls un nosakāmie rādītāji enterovīrusu laboratoriskai diagnostikai

Nr. p.k.	Izmeklējamais materiāls	Izmeklējamā materiāla ņemšanas laiks	Parauga testēšanas metode/rādītājs
1.	<u>Izkārnījumi</u>	paraugus ņem 5.-10 dienā. (Izņēmuma gadījumos līdz 30.dienai) pēc saslimšanas. Akūtas šļauganās paralīzes gadījumā jāņem divus paraugus ar 24-48 stundu intervālu.	Entero RNS (kopējais) Enterovīrusu izolēšana audu kultūrā, izolāta tipēšana līdz konkrētam serotipam.
2.	<u>Rīkles gala un deguna eju /nazofaringeāla iztriepe</u>	paraugu ņemt 1. - 7.slimības dienai, kad vīrusu daudzums organismā ir maksimāls. Noņemšanas veids sk. https://www.aslimnica.lv/lv/saturs/nacionala-mikrobiologijas-references-laboratorija	Entero RNS (kopējais) Enterovīrusu izolēšana audu kultūrā, izolāta tipēšana līdz konkrētam serotipam Multiplex RV 16 (respiratoru saslimšanu gadījumā)
3.	<u>Cerebrospinālais šķidrums</u>	cerebrospinālo šķidrumu ņem sterilā stobriņā pieaugušajiem 1-4ml, bērniem 0,5 – 1,0 ml. jāņem ne vēlāk par 7. slimības dienu (izņēmuma gadījumos - ne vēlāk par 10. dienu).	Entero RNS (kopējais) Enterovīrusu izolēšana audu kultūrā, izolāta tipēšana līdz konkrētam serotipam
4.	<u>Asinis ar EDTA</u>	venoza asins paraugu ņemšanai izmantot vienreizējās sistēmas, kas paredzētas asins ņemšanai (monovetes, vakutaineri u.tml.) ar K3 EDTA pieaugušajiem 3,5 - 7.5ml, bērniem 1,2 – 3,5ml apjomā atbilstoši ražotāja rekomendācijām. Pēc asins ņemšanas rūpīgi samaisīt paraugu ar antikoagulantu, lai nepieļautu recekļa izveidošanos	Entero RNS (kopējais)
5.	<u>Asins serums</u>	Parauga ņemšanai izmanto vakuuma stobriņus/stobriņus <u>bez konservantiem</u> , no vēnas aseptiski ņem asinis (4-6 ml); savākto materiālu 1 stundu patur istabas temperatūrā un pēc tam glabā no +2 ⁰ C līdz +8 ⁰ C, ne ilgāk par 48 stundām. Ja nav iespējams ātri nogādāt paraugu laboratorijā, obligāti sterili atdala serumu. Atdalīto serumu pārnes tīrā plastmasas stobriņā ar vāciņu. Šādā veidā to var uzglabāt līdz transportēšanai temperatūrā no +4 ⁰ C līdz +8 ⁰ C līdz piecām dienām. Hemolītisks, lipēmisks vai bakteriāli piesārņots serums nav derīgs seroloģiskajām reakcijām.	Vīrusu neitralizācijas tests neitralizējošo antivielu tītra pret polio vīrusa noteikšanai IgA /IgM pret Koksaki vīrusiem ELISA IgA /IgM pret ECHO vīrusiem ELISA
6.	<u>Vides paraugi: notekūdeni, ūdens krātuves, dzeramais ūdens</u>	1. Notekūdeni iepildīt 1 l tīrā traukā ar vāku vai vienreizējās lietošanas hermētiski aiztaisāmā plastmasas maisā. 2. Ūdeni no ūdensvada, akām, atklātām ūdens krātuvēm, peldvietām iepildīt 3 l tīrā traukā ar vāku vai vienreizējās lietošanas hermētiski aiztaisāmā plastmasas maisā.	Vīrusu izolēšana un identificēšana audu kultūrā. Polio un citi enterovīrusi no vides paraugiem. Izolāta tipēšana līdz konkrētam serotipam
	<u>Autopsijas materiāls</u>	Parauga materiālu no smadzenēm, liesas, zarnām, sirds (miokardīta gadījumā) ņem ne vēlāk par 24 st. pēc nāves. Parauga ņemšanai izmanto sterilu trauku vai centrifūgas stobriņu (1,5-10 ml.) ar uzskrūvējamu vāciņu. Ievērot stingru paraugu ņemšanas secību: krūšu kurvja orgānu materiālus ņem pirms vēdera dobuma orgānu materiāliem. Sterili iegūtā materiāla fragmentu (aptuveni 0,5-2 cm ³) ievieto traukā vai stobriņā un aizvāko.	Entero RNS (kopējais) Enterovīrusu izolēšana audu kultūrā, izolāta. Tipēšana līdz konkrētam serotipam.

Enterovīrusu laboratorisko izmeklējumu shematiskais attēls



*L20B – audu kultūra polio vīrusa izolēšanai

Literatūras avoti

1. https://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0020/272810/EnterovirusSurveillanceGuidelines.pdf
2. <http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>, enteroviruses.
3. Specimen Collection, Storage, & Shipment November 14, 2018; <https://www.cdc.gov/non-polio-enterovirus/lab-testing/specimen-collection.html>
4. Polio laboratory manual 4th edition, 2004; <https://apps.who.int/iris/handle/10665/68762>
5. Recommendations for enterovirus diagnostics and characterisation within and beyond Europe; Journal of Clinical Virology Volume 101, April 2018, Pages 11-17.
6. Diagnosis of enteroviral meningitis by use of polymerase chain reaction of cerebrospinal fluid, stool, and serum specimens Kupila L.Vuorinen T, Vainionpää R, Marttila RJ, Kotilainen P. Clin Infect Dis. 2005 Apr 1;40(7):982-7. doi: 10.1086/428581. Epub 2005 Mar 4.PMID: 15824990