



Izglītības un zinātnes ministrijas finansētas valsts pētījumu programmas

“Covid-19 seku mazināšanai”

**Projekta Nr. VPP-COVID-2020/1-0016  
„COVID-19 saistīto paraugu biobankas un asociēto datu integrētās  
platformas izveide Latvijā”**

Līguma numurs, noslēgšanas datums: Nr. 6-1/2, 10.07.2020.

Projekta īstenošanas termiņš: 01.07.2020.-31.12.2020.

Valsts pētījuma programmas finansējuma saņēmējs:  
**APP Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs**

**ZINĀTNISKĀ PĒTĪJUMA REZULTĀTS**

*Covid-19 pacientu un pārslimojušo cilvēku bioloģisko paraugu  
biobanka*

## Satura rādītājs

1.Pacientu rekrutēšana_____	4.lpp
2.Bioloģiskais materiāls_____	7.lpp
2.1.Paraugu ievākšana, transports_____	8.lpp
2.2.Paraugu apstrāde un uzglabāšana_____	9.lpp
3.Saistītie dati_____	10.lpp
4.Ētiskie apsvērumi_____	11.lpp
5.Bioloģiskā materiāla un saistīto datu pieejamība citu zinātnisku projektu realizācijai _____	12.lpp

## Ievads

Covid-19 pandēmija un tās sekas ir radījušas virkni izaicinājumu Latvijas veselības aprūpē un sabiedrībā kopumā, radot nepieciešamību pēc tūlītējas rīcības vīrusa infekcijas izpētē. Lai veicinātu SARS-CoV-2 infekcijas izpēti Latvijā un arī globālā mērogā, Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centra (LBMC) Valsts iedzīvotāju genoma datu bāzē (VIGDB) ir izveidota kvalitatīva Covid-19 pacientu kohorta, kas sastāv no 591 pacientiem ar dažādu slimības smaguma pakāpi (<https://www.genomadatubaze.lv/lv/covid-19-kohorta>). Covid-19 pacientu un pārslimojušo personu bioloģisko paraugu biobankā šobrīd ir apkopotas vairāk nekā 35 000 alikvotas, tajā skaitā asins, fēču, urīna, orofaringeālās uztriepes paraugi, kas tiek apstrādāti un uzglabāti atbilstoši Pasaules veselības organizācijas rekomendācijām. Par katru kohortas dalībnieku ir ievākta detalizēta informācija, ietverot antropometriskos parametrus, iedzimtības faktorus, bioķīmisko analīžu rezultātus un apjomīgus klīniskos datus. Ievāktais bioloģiskais materiāls līdz šim ir izsniegts citu Valsts pētījumu programmas uzdevumu izpildei, un ir pieejams citiem zinātniekiem Latvijā.

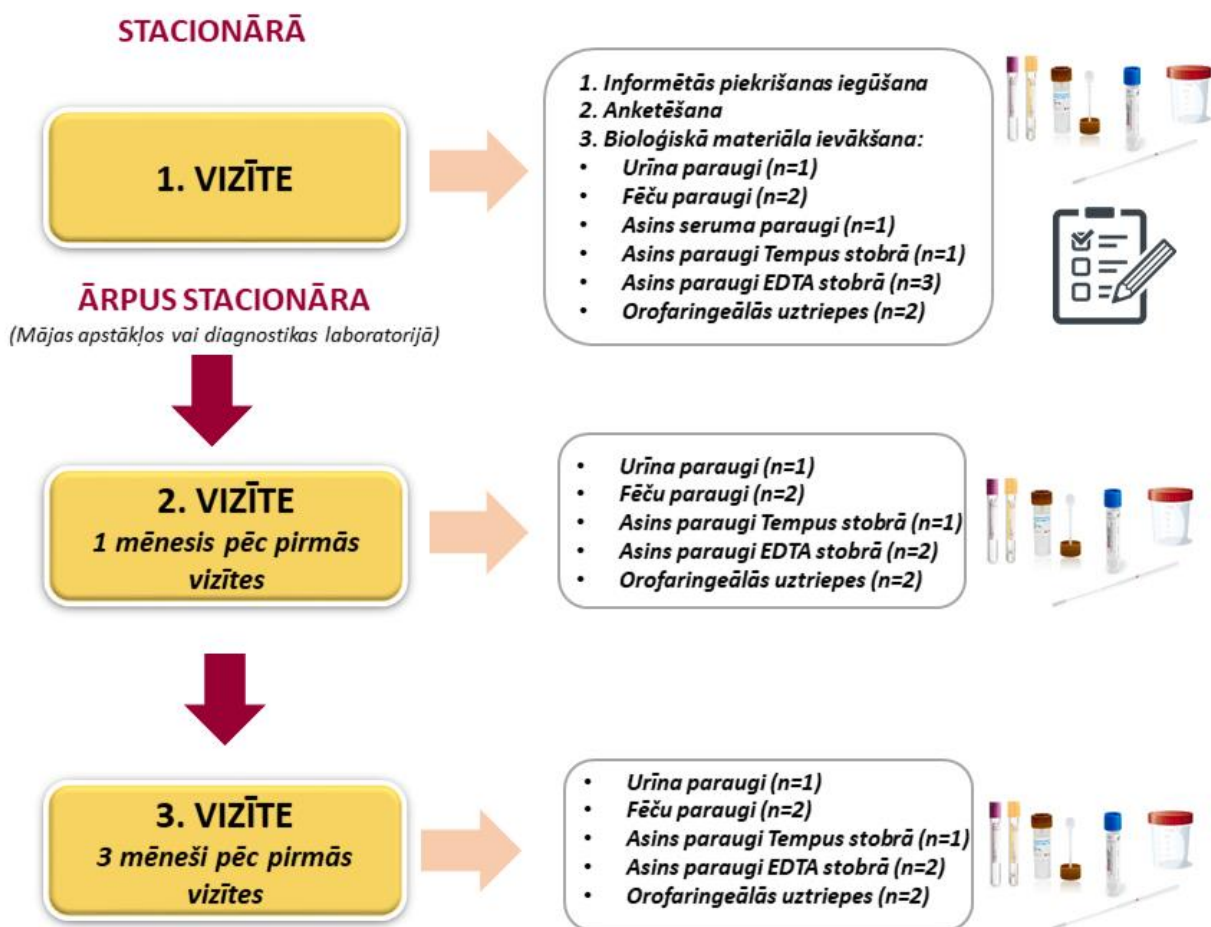
## 1. Pacientu rekrutēšana

Covid-19 pacientu un pārslimojušo cilvēku iesaistīšana pētījumā tika veikta sadarbībā ar Rīgas Austrumu klīnisko universitātes slimnīcu, Liepājas reģionālo slimnīcu, Vidzemes slimnīcu un vadošajām diagnostikas laboratorijām Latvijā (E. Gulbja laboratorija un Centrālā laboratorija) un uzņēmumu SIA Erbers, kas nodrošina paraugu ievākšanu pie pacienta mājas apstākļos, kas ir īpaši būtiski Covid-19 akūtā infekcijas fāzē esošajiem ambulatorajiem pacientiem. Šobrīd VIGDB (Valsts iedzīvotāju genoma datubāzes) ietvaros izveidotajā Covid-19 pacientu kohortā ir iesaistītas 591 personas. Pacientu rekrutēšanu veica apmācīts un kvalificēts medicīnas personāls pēc vienotas procedūras un pētījumā tika iesaistīti pacienti, kas atbilda sekojošiem iekļaušanas kritērijiem:

- 1.(a) SARS-CoV-2 inficēta persona vai (b) persona, kas pārslimojusi COVID-19, vai (c) persona, kas bijusi kontaktā, bet nav saslimusi, vai (d) personas, kurām ir atrastas SARS-CoV-2 antivielas.
2. Persona devusi informēto piekrišanu dalībai pētījumā.

Par personām, kas nebija sasniegušas 18 gadu vecumu vai bija rīcībnespējīgas, piekrišanu iesaistīties pētījumā sniedza to likumiskais pārstāvis. Potenciālajam dalībniekam (viņa likumiskajam pārstāvim) tika izskaidrota pētījuma būtība, dots laiks pārdomāt savu izvēli, izlasīt informēto piekrišanu un apspriest piedāvāto iespēju ar tuviniekiem. Ja dalībnieks (viņa likumiskais pārstāvis) piekrita iesaistīties pētījumā, tika iegūta rakstiski aizpildīta informētā piekrišana dalībai VIGDB un Covid-19 pētījuma specifiskā piekrišana (skatīt 1. pielikumu). Ņemot vērā atšķirīgo slimības norisi, pacientu rekrutēšanai tika izvirzītas divas dažādas darba plūsmas, balstoties uz pacienta klīnisko statusu (stacionēts n=189 vai ambulators n=402) (1. un 2. attēls). Papildus tam bioloģiskā materiāla ievākšana no atsevišķām pacientu grupām tika veikta atkārtoti dažādos laika punktos (kopā 329 longitudināli paraugi), ļaujot pētīt infekcijas radītos efektus laikā (1. un 2. attēls).

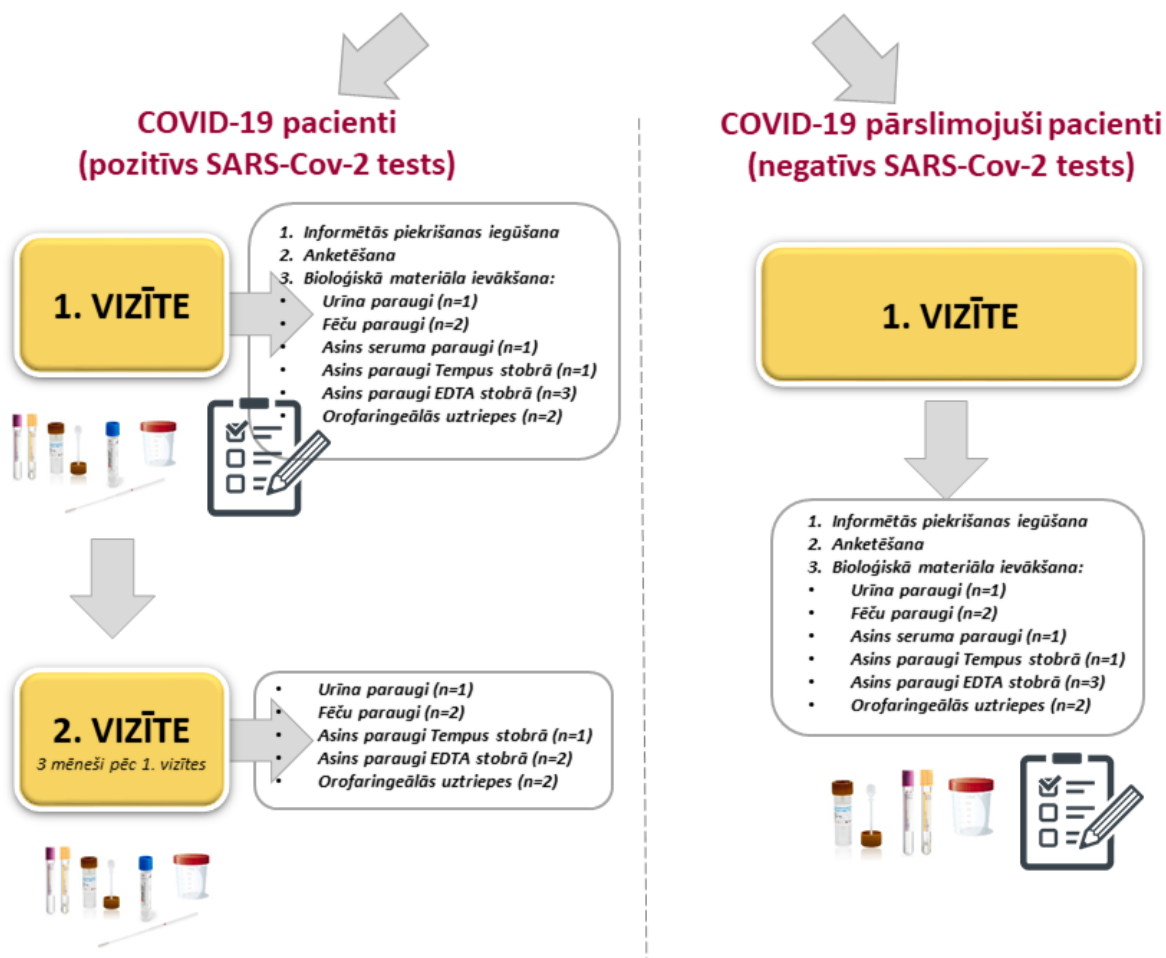
## STACIONĒTU COVID-19 PACIENTU IESAISTĪŠANA PĒTĪJUMĀ (N=146)



1.attēls. Stacionētu Covid-19 pacientu iesaistes procedūras shēmatisks attēlojums.

## AMBULATORU COVID-19 PACIENTU IESAISTĪŠANA PĒTĪJUMĀ (N=382)

Mājas apstākļos vai diagnostikas laboratorijā

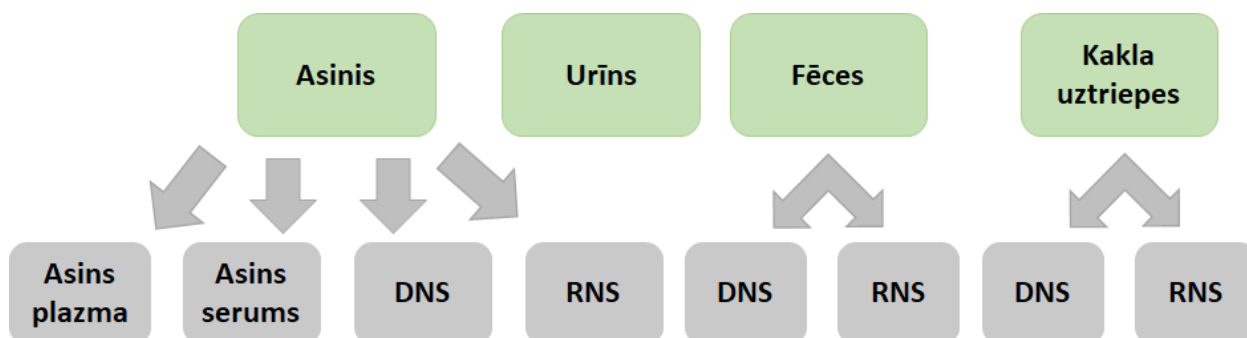


2.attēls. Ambulatoru Covid-19 pacientu iesaistes procedūras shematisks attēlojums.

## 2. Bioloģiskais materiāls

No katra pētījumā iesaistītā Covid-19 pacienta tika ievākti un uzglabāti sekojoši bioloģiskie paraugi:

1. Pilnasisinis 1ml (2-10 alikvotas);
2. No asins paraugiem izolēta genomiskā DNS (500ul, 1-2 alikvotas);
3. No asins šūnām izolēta RNS (90ul, 1 alikvota);
4. Asins plazma (300ul, 10-20 alikvotas);
5. Asins serums (300ul, 14 alikvotas);
6. Fēces (2 alikvotas);
7. No fēcēm izolēta DNS (100ul, 1 alikvota);
8. No fēcēm izolēta RNS (80ul, 1 alikvota);
9. Urīns 1ml (2-10 alikvotas);
10. Orofaringeālās uztriepes 1-3ml (1-2 alivotas);
11. No orofaringeālās uztriepes izolēta DNS (100ul, 1 alikvota);
12. No orofaringeālās uztriepes izolēta RNS (50ul, 1 alikvota);
13. Perifērās asins mononukleārās šūnas (PBMC) atsevišķai pacientu grupai (2-5 alikvotas, atsevišķai pacientu grupai).



3.attēls. Biobankā uzglabātie paraugu veidi (kopā aptuveni 60-70 paraugu alikvotas katram pacientam).

## 2.1. Paraugu ievākšana, transports

Paraugi un ar tiem saistītie dati ievākšanas laikā tika kodēti atbilstoši VIGDB paraugu kodēšanas sistēmai ar kodu, kas nesatur dalībnieku identificējošu informāciju. VIGDB un Covid-19 pētījuma dalībnieka informētās piekrišanas dokumenti ir vienīgie, kas satur dalībnieku identificējošu informāciju. Paraugu un ar tiem saistītās dokumentācijas loģistiku veica īpaši apmācīts personāls, kas nogādājis bioloģiskos paraugus un saistītos datus VIGDB telpās ar šim nolūkam piemērotu transportu, kas nodrošina bioloģisko drošību, audu paraugu kvalitāti un datu konfidencialitāti. Paraugu transportēšana veikta atbilstoši Pasaules Veselības Organizācijas (turpmāk – PVO) vadlīnijām “*Laboratory biosafety guidance related to the novel coronavirus (2019-nCoV)*” pieņemot, ka paraugi atbilst UN337 Bioloģisko vielu kategorijai B, transportēšanas process notiek atbilstoši šīs kategorijas prasībām “*Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2019–2020*”. Paraugu apstrāde tiek veikta arī atbilstoši PVO vadlīnijām “*Laboratory biosafety guidance related to the novel coronavirus (2019-nCoV)*” īpašu uzmanību liekot uz “Labas mikrobioloģijas prakses un procedūru” ievērošanu, paraugu apstrādes procesu veicot BSL-2 līmeņa laboratorijā (atbilstoši PVO “*Laboratory biosafety manual*”). Paraugu transportēšanai un apstrādei BMC telpās ir izstrādāti speciāli protokoli un drošības noteikumi, kā arī ir veikta visa iesaistītā personāla apmācība, lai nodrošinātu maksimālu drošību īstenojot potenciāli Covid-19 infekciozus paraugus (1. un 2. Pielikums).



## 2.2. Paraugu apstrāde un uzglabāšana

Paraugu apstrāde tiek veikta arī atbilstoši PVO vadlīnijām “*Laboratory biosafety guidance related to the novel coronavirus (2019-nCoV)*” īpašu uzmanību liekot uz “Labas mikrobioloģijas prakses un procedūru” ievērošanu, paraugu apstrādes procesu veicot BSL-2 līmeņa laboratorijā (atbilstoši PVO “*Laboratory biosafety manual*”). Pētījuma vajadzībām no EDTA stobros ievāktiem asins paraugiem tika izdalīta genomiskā DNS (fenola-hloroforma metode), ar centrifugāciju atdalīta un alikvotēta asins šķidrā daļa (plazma, serums), kā arī, izmantojot fikolu, atdalītas perifērās asins mononukleārās šūnas (PBMC). Lai nodrošinātu masīvu bioloģisko paraugu vienlaicīgu apstrādi, tikai ieviesta automatizētas sistēmu izmantošana – MGISP-960 platforma (MGI Tech). Automatizēta darba plūsma tika ieviesta mikrobiālās DNS izolēšanai no fēcēm un orofaringeālajām uztriepēm (MagPure Stool DNA LQ Kit, Angen Biotech Co), kā arī RNS izolēšanai no orofaringeālajām uztriepēm (MGIEasy Nucleic Acid Extraction Kit, MGI Tech). RNS izolēšana no asins paraugiem un fēcēm tika veikta manuāli, izmantojot Tempus™ Spin RNA Isolation Kit (ThermoFisher Scientific) un QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen) reaģentu komplektus (lietoto metožu protokoli ir pieejami 1. Pielikumā, norise attēlota 4. attēlā). Atdalītā asins plazma, serums un PBMC tiek uzglabāti ultrazemas temperatūras saldētavā ar temperatūru zem  $-70^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ . No audiem izdalītās bioloģiskās molekulas: DNS, RNS, proteīni tiek uzglabāti sasaldētā veidā temperatūras intervālā no  $-20^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$  līdz  $-70^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$  atkarībā no paraugu veida un uzglabāšanas ilguma. Mutes un deguna gļotādu uztriepes, fēcū, urīna, vai citu organisma šķidrumu materiāls tiek uzglabāts temperatūras intervālā no  $-20^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$  līdz  $-70^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ , atkarībā no paraugu veida un uzglabāšanas ilguma.



4. attēls. Attēli no Covid-19 paraugu apstrādes VIGDB ietvaros.

### 3.Saistītie dati

Sadarbībā ar Rīgas Stradiņa universitāti ir veikta Covid-19 pacientu retrospektīva anketēšana telefoninterviju formā un klīnisko datu ievākšana stacionāros (Latvijas Infektoloģijas centrs, Liepājas reģionālā slimnīca, Vidzemes slimnīca). Ir iegūta informācija par antropometriskajiem parametriem, iedzimtības faktoriem, slimības vēsturi, infekcijas smaguma pakāpi, bioķīmisko analīžu rezultātiem u.c. klīniski nozīmīgiem rādītājiem, ievērojot LEOSS Eiropas datu reģistra sistēmas formātu. Iegūtie dati pseidoanonimizētā veidā ir integrēti projekta ietvaros izveidotajā Covid-19 datu platformā. Klīnisko datu ievākšanas kategorijas tika dalītas vairākās grupās. No

stacionētiem Covid-19 pacientiem klīniskie dati tika ievākti sekojošās kategorijās: pacienta vispārējie dati, slimības simptomi pirms stacionēšanas, simptomi stacionārā, komplikācijas, medikamenti, pasākumi intensīvās terapijas nodaļā, bioķīmiskās analīzes stacionārā, vīrusa ģenētika, radioloģiskie dati. No ambulatorajiem pacientiem tikai ievāktas sekojošas datu kategorijas: pacienta vispārējie dati, slimības simptomi, lietotie medikamenti.

#### 4. Ētiskie apsvērumi

Pētījuma protokols, Covid-19 pētījumspecifiskā piekrišana un VIGDB informētās piekrišanas forma ir apstiprināti Centrālās medicīnas ētikas komitejā (atļaujas biobankas veidošana: Nr. 01-29.1/2429, Nr. 1/19-04-05 un Covid-19 pacientu kohortas veidošana Nr. 01-29.1/5034). Pētījums tiek veidots saskaņā ar Helsinku deklarāciju un Konvenciju par cilvēktiesību un cieņas aizsardzību bioloģijā un medicīnā - Konvenciju par cilvēktiesībām un biomedicīnu. Visas pētījumā veiktās darbības tiek veiktas saskaņā ar Pasaules medicīnas asociācijas izdoto Taipejas Deklarāciju par Ētiskiem apsvērumiem attiecībā uz ar veselību saistītām datubāzēm un biobankām (*WMA Declaration of Taipei on Ethical Considerations regarding Health Databases and Biobanks*), šīs deklarācijas atjaunināto 67. versiju, kas pieņemta 2016. gada oktobrī.

##### *Normatīvie akti:*

Pētījuma veikšanas laikā tiks ievēroti likumi, kas attiecas uz ģenētisko izpēti un ir spēkā Latvijas Republikas teritorijā pētījuma veikšanas brīdī. Tie ir:

1. Cilvēka genoma izpētes likums ar grozījumiem.
2. Fizisko personu datu apstrādes likums un Eiropas Parlamenta un Padomes 2016. gada 27. aprīļa regula (ES) 2016/679 par fizisku personu aizsardzību attiecībā uz personas datu apstrādi un šādu datu brīvu apriti un ar ko atceļ direktīvu 95/46/EK (Vispārīgā datu aizsardzības regula).
3. MK noteikumi Nr.692 “Ģenētiskās izpētes kārtība”.
4. MK noteikumi Nr.695 “Noteikumi par genoma datu bāzē uzglabāto kodēto audu paraugu, kodēto DNS aprakstu, kodēto veselības stāvokļa aprakstu un kodēto ģenealoģiju uzglabāšanas un

izsniegšanas kārtību un izsniegšanas akta veidlapas paraugu un tās aizpildīšanas un uzglabāšanas kārtību”.

5. MK noteikumi Nr.694 “Noteikumi par genoma datu bāzē uzglabāto gēnu donora personas datu, audu paraugu, DNS aprakstu un veselības stāvokļa aprakstu iznīcināšanas kārtību, iznīcināšanas akta veidlapas paraugu un tās aizpildīšanas un uzglabāšanas kārtību”.

6. MK noteikumi Nr.697 “Noteikumi par gēnu donora piekrišanas dokumenta veidlapas paraugu un tās aizpildīšanas un uzglabāšanas kārtību”.

7. MK noteikumi Nr.446 “Kārtība, kādā atļauj izmantot pacienta datus konkrētā pētījumā”.

## **5. Bioloģiskā materiāla un saistīto datu pieejamība citu zinātnisku projektu realizācijai**

Atbilstoši atvērtās zinātnes principam, ievāktais Covid-19 pacientu bioloģiskais materiāls ir pieejams citiem zinātniekiem Latvijā, kas ir saņēmuši neatkarīgas ētikas komitejas atzinumu pētījuma veikšanai. Līdz šim no biobankas tālākai izpētei Rīgas Stradiņa universitātē ir izsniegti Covid-19 pacientu urīna, fēču, asins seruma, kakla uztriepju paraugi (kopā vairāk kā 300 dažādi paraugi), savukārt no kakla uztriepēm izolētās RNS, kakla uztriepju un asins plazmas paraugi ir izsniegti padziļinātākai izpētei citiem zinātniekiem Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā (kopā 37 dažādi paraugi). Izsniegtie paraugi tiek izmantoti citu Ministru kabineta rīkojumā Nr. 278 (spēkā kopš 2020. gada 20. maija) definēto uzdevumu (Nr. 6.1. un 6.3.) īstenošanai. Projekta ietvaros izveidotā Covid-19 pacientu kohorta ir pieejama Biobanku un biomolekulāro resursu pētniecības infrastruktūru brīvpieejas rīkā *BBMRI-ERIC Directory* (<https://directory.bbmri-eric.eu/menu/main/app-molgenis-app-biobank-explorer>), kas veicina biobanku starptautisku sadarbību. Informācija par Covid-19 pacientu kohortu, tajā iekļauto bioloģisko materiālu kolekciju un datiem ir pieejama VIGDB mājas lapā (<https://www.genomadatubaze.lv/lv/covid-19-kohorta>).

## COVID-19 paraugu apstrādes protokoli Valsts iedzīvotāju genoma datubāzes ietvaros

Plazmas apstrādes protokols.....	13
Seruma apstrādes protokols.....	13
COVID paraugu fasēšana.....	14
Genomiskās DNS izdalīšanas metode no cilvēka asinīm.....	15
PBMC izolācijas protokols.....	17

### Plazmas apstrādes protokols

1. Pēc reģistrācijas, asins vakutainerus **centrifugē +4°C, 4000apg./15min.**

**Piezīme:** Neatkarīgi no asins paraugu skaita, saņemšanas dienā tiem tūlīt pēc centrifugēšanas tiek atfasēta un noglabāta plazma.

2. Plazma (augšējā asins frakcija) ar pipeti tiek pārnesta 5 stobriņos pa 1 ml katrā.
3. Stobriņus noslēdz ar gumijas korķiem un pārlicinās par to hermētiskumu.
4. Plazmas sobriņus ievieto glabāšanas kastītē atbilstoši pozīcijai uz uzlīmes un noglabā kelvinatorā pie -70°C.
5. Visiem asins vakutaineriem, **uzmanīgi, neskarot balto šūnu slāni**, ar pipeti atsūc pārējo plazmu.
6. Šādi apstrādātus asins paraugus, tālāk nodod uz DNS izdalīšanu vai uzglabā ledusskapī Nr.1 pie +4±2°C, ne ilgāk kā trīs dienas.

### Seruma apstrādes protokols

1. Seruma vakutainerus (stobriņš ar dzeltenu korķi) līdz ar asinīm pierēģistrē datu operators.
2. Uz seruma vakutaineriem uzlīmē identifikācijas kodus (kastes Nr., pozīcija) un centrifugē +4°C 4000apg./15min.
3. Līdz fasēšanai seruma vakutainerus uzglabā ledusskapī Nr.1 pie +4±2°C un alikvotē uzreiz pēc centrifugācijas.
4. Sagatavo stobriņus:
  - 4.1. katram seruma vakutainerim (1 paraugam) nepieciešami 3 1,4ml stobriņi,
  - 4.2. izprintē uzlīmes no datorprogrammas *Excel*, faila nosaukums „izdruka3” (kastes Nr., pozīciju, Nr., kas apzīmē serumu un aliq Nr.1-3),
  - 4.3. katram paraugam sagatavo stobriņu komplektu ar atbilstošām uzlīmēm.
5. Uzmanīgi, neskarot gēla slāni, serumu katrā stobriņā iepilda pa 1 ml izvērtējot seruma daudzumu vizuāli.

**Piezīme:** Ja vakutainerī pēc safasēšanas vēl ir serums, tad atlikumu sadala pa stobriņiem. Ja seruma ir maz, tad uzpilda tik stobriņus, lai katrā seruma tilpums būtu 1 ml.

6. Saplūdiem stobriņiem uzliek gumijas korķus un pārļiecinās par to hermētiskumu.
7. Serumus ievieto atbilstošajā kastītē:
  - 7.1. līdz pilnīgai kastīte uzpildīšanai, to uzglabā DNS laboratorijas ledusskapja saldētavā Nr.1,
  - 7.2. kad kastīte ir pilna, to noglabā kelvinatorā pie -70°C.

### COVID paraugu fasēšana

#### *Pozitīvie CO paraugi (ar uztriepēm)*

20 plazmas x 0,5ml  
14 serumi x 0,3ml  
10 urīni x 1ml  
10 pilnasinis x 1ml

#### *Pozitīvie CO paraugi no LIC (ar uztriepēm)*

20 plazmas x 0,5ml  
14 serumi x 0,3ml  
4 urīni x 1ml

Jāatdod RSU tajā pašā dienā pēc iespējas ātrāk: Urīna trauks + 1 EDTA vak. + 1 fēču st. + 1 uztriepe  
1 EDTA vak. jāatdod Unai, ja ir 4 vakutaineri.

#### *ATKĀRTOTIE Pozitīvie CO paraugi no LIC (\_2)*

20 plazmas x 0,5ml  
14 serumi x 0,3ml  
4 urīni x 1ml

Jāatdod RSU tajā pašā dienā pēc iespējas ātrāk: Urīna trauks + 1 EDTA vak. + 1 fēču st. + 1 uztriepe

#### *Negatīvie CO paraugi (paraugi bez uztriepēm)*

20 plazmas x 0,5 ml  
14 serumi x 0,3ml  
10 pilnasinis x 1ml  
10 urīni x 1 ml

#### *Negatīvie ATKĀRTOTIE CO paraugi (paraugi bez uztriepēm)(\_3 un \_4)*

20 plazmas x 0,5 ml  
14 serumi x 0,3 ml  
4 pilnasinis x 1ml (storbriņa atlikumu centrifugē, savāc buffy coat (15ml falkonā)  
10 urīni x 1 ml

#### *Bērnu CO paraugi (tikai 1 EDTA vak.)*

8 plazmas x 0,5ml  
10 serumi x 0,3ml, ja ir atlikums, to sadala pa pēdējām alikvotām  
10 urīni x 1ml

#### *Bērni CO ATKĀRTOTIE paraugi (tikai 1 EDTA vak.)(\_3 un \_4)*

8 plazmas x 0,5ml  
10 serumi x 0,3ml, ja ir atlikums, to sadala pa pēdējām alikvotām  
10 urīni x 1ml

## Genomiskās DNS izdalīšanas metode no cilvēka asinīm

1. Personāls, kas veic manipulācijas ar audu paraugiem, **obligāti lieto individuālās aizsardzības līdzekļus: cimdus un virsvalku** (nomaina pēc vajadzības).
2. DNS izdalīšana tiek veikta divas darba dienas:
  - 2.1. 1.dienā izdalīšana tiek pabeigta ar punktu 2.5.,
  - 2.2. 2.dienā tiek uzsākta ar punktu 3.1.
3. DNS izdalīšana tiek veikta no pirmdienas līdz ceturtdienai.
4. Laboratorijas vadītājs izsniedz laborantam DNS izdalīšanas veidlapu ar norādītu paraugu sarakstu, pēc kura tas atlasa norādītos asins paraugus uz DNS izdalīšanu, kuriem **iepriekš ir bijusi veikta priekšapstrāde** (skat. Seruma apstrādes protokols, plazmas apstrādes protokols).
5. Pirms DNS izdalīšanas procesa uzsākšanas, **jāpārlicinās, vai pietiekošā daudzumā ir nepieciešamie sterilie materiāli un darba šķīdumi.**

### 1. Balto asins šūnu attīrīšana

1.1. Leikocīto šūnu noglabāšanai tiek izprintēta uzlīme, atbilstoši identifikācijai, un uzlīmēta uz 1,4 ml stobriņa.

**Piezīme: Obligāti jāpārlicinās** par to, ka uzlīmes cieši pieguļ **1,4 ml stobriņiem**, kas pēc tam tiks noglabāti pie -70°C, jo pretējā gadījumā, tās zemajā temperatūrā atlīmēsies.

- 1.2. Kopā ar leikocīto šūnu uzlīmēm, vienlaicīgi tiek izprintētas arī 3 uzlīmes DNS izdalīšanas falkonu marķēšanai.
- 1.3. Uz steriliem 50 un 15 ml falkoniem uzlīmē atbilstošā parauga identifikāciju (kastes nr., pozīciju) un abos uzpilda ~10ml ar RBC Lysis A1 šķīduma (no dispensera).
- 1.4. **Uzmanīgi**, ar grieztu, sterilu tipu **nosūc visu balto šūnu slāni** (pēc iespējas mazāk paņemot pārējos asins ķermenīšus) un pārnes iepriekš sagatavotā 50 ml un 15ml falkonos. Tipu noskalo vairākkārtīgi iesūcot un izspiežot RBC Lysis A1 šķīdumu.

**Piezīme:** Ja neizdodas nosūkt balto šūnu slāni un tas darbības rezultātā ir sajaucies ar pārējiem asins ķermenīšiem, tad šo vakutaineri centrifugē +4°C, **4000apg./15min** vēlreiz un atkārtoti baltā šūnu slāņa savākšanu.

- 1.5. 50 ml falkonam (ar šūnām) uzlej vēl 10 ml RBC Lysis A1 šķīduma (no dispensera), uzliek korķi un samaisa, 3x apgriežot riņķī, **nedrīkst vorteksēt un stipri kratīt.**
- 1.6. Inkubē 15 min pie +4±2°C ledusskapī Nr.1.
- 1.7. Atlikušās asinis neizmanto, uzliek korķīti un izmet pie bioloģiskiem atkritumiem paredzētajā maisā.
- 1.8. Pēc inkubācijas 50 ml falkonus centrifugē +4°C, 4000apg./15min, **un tūlīt pēc centrifūgas apstāšanās pāriet pie nākamā punkta.**
- 1.9. **Uzmanīgi nolej** (speciāli marķētā „Bīstamie bioloģiskie atkritumi” tvertnē) **supernatantu, atstājot nogulsnes** (leikocītās šūnas).
- 1.10. Pēc supernatanta noliešanas, nogulsnes (leikocītās šūnas) kopā ar atlikušo buferi (500 – 700 µl), **uzmanīgi** tiek suspendētas ar pipetes palīdzību tā, lai leikocītās šūnas netiktu pārrautas, paliktu viengabalainas. Suspendējot jāizvairās no straujas šķīduma iesūkšanas un izspiešanas.
- 1.11. **Viens no šūnu paraugiem paredzēts DNS izdalīšanai, otrs tiek iepildīts marķētajā sobriņā, ievietots šūnu glabāšanas kastītē, atbilstoši pozīcijai uz uzlīmes, un noglabāts kelvinatorā pie -70°C.**

**Piezīme:** Ja šūnu paraugam, kas paredzēts uz DNS izdalīšanu, ir redzams stiprs bufera sarkanais krāsojums (ar leukocītām šūnām ir paņēmiens līdzīgi daudz eritrocītu), tad pirms izdalīšanas šūnas atkārtoti nomazgā. Uz tām uzlej 5 ml Cell Suspension Solution (no dispensera), pagroza, lai šūnas apskalojas (**nedrīkst kratīt**) un nocentrifugē +4°C, 4000apg./5min. Supernatantu nolej un suspendē šūnas (skat. 1.10.punktā).

## 2. Leikocīto šūnu lizēšana

- 2.1. 15 ml falkonā esošās nogulsnes (leikocītās šūnas) tiek suspendētas, attiecīgi pievieno 5 ml Cell Suspension Solution (no dispensera).
- 2.2. Rūpīgi samaisa, ievietojot grozītājā uz 3-5 min, līdz šūnas ir suspendētas šķīdumā.
- 2.3. Pievieno 0.4 ml 10% SDS šķīduma, samaisa 3 x apgriežot riņķī.
- 2.4. Pievieno 5.0 µl Proteināzes K, samaisa 3 x apgriežot riņķī.
- 2.5. Inkubē uz nakti termostatā pie +50°C un DNS izdalīšanu turpina nākamajā dienā.

## 3. DNS izdalīšana

- 3.1. No iepriekšējās darba dienas, termostatā inkubētiem paraugiem, turpina DNS izdalīšanu.
- 3.2. Šūnu maisījumam pievieno 5 ml Fenola, maisa grozītājā ne mazāk par 15 min, **centrifugē +20°C, 4000apg./10min.**
- 3.3. Virsējo fāzi pārnes jaunā 15 ml falkonā (lietojot attiecīgo uzlīmi), neaiztiekot fenolu un šūnu atlikumu.
- 3.4. Pievieno 5 ml hloroforma, maisa grozītājā 5 min, **centrifugē +20°C, 4000apg./10min.**
- 3.5. Virsējo fāzi uzmanīgi pārnes jaunā 15 ml falkonā (lietojot attiecīgo uzlīmi), cenšoties nepaņemt hloroformu un šūnu atlikumus.

**Piezīme:** Ja šūnu atlikumu ir pārāk daudz un tie ir pārnesti jaunajā falkonā, vēlreiz pievieno 5 ml hloroforma, samaisa, centrifugē 4000apg./10min un pārnes virsējo fāzi jaunā 15 ml falkonā (lietojot attiecīgo uzlīmi).

- 3.6. Lēnām, gar falkona malu, pievieno 5 ml izopropilspirta, rūpīgi samaisa apgriežot falkonu vairākas reizes (**nedrīkst kratīt**), kamēr izveidojas DNS nogulsnes (ja nogulsnes neveidojas sk. 3.11. punktu).
- 3.7. Centrifugē +20°C, 4000apg./10min **un tūlīt pēc centrifūgas apstāšanās pārīet pie nākamā punkta.**
- 3.8. Visu šķīdumu uzmanīgi nolej un tajā pašā falkonā pievieno 5 ml 70% etanola, **kārtīgi samaisa** (uzvorteksē/10sek vai ieliek grozītājā/1min) un **inkubē 2 min.**
- 3.9. Centrifugē +20°C, 4000apg./10min **un tūlīt pēc centrifūgas apstāšanās pārīet pie nākamā punkta.**
- 3.10. Rūpīgi nolejot spirtu uzmana, lai nogulsnes paliek pie falkona sienīņas. Turot apgāztus falkonus uz filtrpapīra, nogulsnes žāvē 10min istabas temperatūrā.
- 3.11. **Gadījumā, ja pēc izopropilspirta pievienošanas neveidojas DNS precipitāts rīkojas sekojoši:**
  - 3.11.1. Falkonu ar izopropanolu tur uz nakti ledusskapja Nr.1 saldētavā pie -18°C.
  - 3.11.2. Centrifugē +20°C, 4000apg./15min.
  - 3.11.3. Uzmanīgi nolej supernatantu.
  - 3.11.4. Pievieno 5 ml 70% etanola, **obligāti samaisa**, vorteksējot (10sek) vai grozītājā (1min) un inkubē 2 min.
  - 3.11.5. Centrifugē +20°C, 4000apg./10min.



3.11.6. Rūpīgi nolejot spirtu uzmana, lai nogulsnes paliek pie falkona sienīņas. Turot apgāztus falkonus uz filtrpapīra, nogulsnes žāvē 10 min istabas temperatūrā.

#### 4. DNS šķīdināšana

- 4.1. Pievieno 1 ml DNA *Hydration Solution* (TE buferis), lēni maisot grozītājā atstāj pa nakti istabas temperatūrā. Nākamajā rītā ieliek ledusskapī Nr.1 pie  $+4\pm 2^{\circ}\text{C}$  un turpina šķīdināt vienu nedēļu (vismaz 7 dienas).
- 4.2. 15 ml falkonus ar DNS uzvortaksē 10 sek un nocentrifugē uz īsu mirkli (līdz 1min), lai to novirzītu no falkona sienīņām uz lejas daļu.
- 4.3. DNS koncentrāciju nomēra uz nanodropa (skat. instrukciju I-09/20.02.2009.)

**Piezīme:** Ja mērot DNS koncentrāciju, tīrības vērtībai ir būtiska novirze no normas (1,70 – 1,95), tad turpmākās darbības ar paraugu tiek saskaņotas ar laboratorijas menedžeri.

- 4.4. Pie paraugu reģistrēšanas, izprintētās DNS uzlīmes, kas paredzētas katram paraugam divas (1aliq, 2aliq), uzlīmē uz 2D 1,4 ml stobriņiem.
- 4.5. DNS fasējot, sadala to divos marķētajos 2D stobriņos pa 500  $\mu\text{l}$  katrā, izmantojot tipu ar filtru, un uzliek gumijas korķus.
- 4.6. Safasētos stobriņus, atdod datu operatoram uz 2D koda un kastītes reģistrāciju.
- 4.7. Pēc tam, laborants, tos noglabā kelvinatorā pie  $-70^{\circ}\text{C}$ .

#### PBMC izolācijas protokols

1. Asins paraugus ievāc mēģenēs ar EDTA vai nātrija heparinātu (lai garantētu šūnu dzīvotspēju, asins paraugus ieteicams apstrādāt 2 stundu laikā).
2. Piepildiet 15 ml mēģeni ar atdalīšanas vidi: 5 ml Ficoll (Ficoll jābūt istabas temperatūrā pirms PBMC izolēšanas).
3. Atsevišķā 15 ml mēģenē atšķaidiet perifērās asinis proporcijā 1: 1 ar 1x fosfāta buferšķīdumu (1xPBS, pirms asiņu pievienošanas pārliecinieties, vai PBS ir istabas temperatūrā) maksimālajam tilpumam 10 ml (maks.sākuma asiņu tilpums ir ~ 5 ml).
4. Asinis no 3. posma viegli atšķaidiet uz Ficoll no 2. posma.
5. Centrifugē ar paatrinātāju un izslēgtām bremzēm 25 minūtes  $23^{\circ}\text{C}$  temperatūrā (istabas temperatūra) pie 400xg Izslēgt centrafūgas bremzes.
6. Izmantojot sterilu Pasteur pipeti, uzmanīgi noņemiet (un izmetiet) augšējo plazmas slāni līdz 2-3 mm virs necaurspīdīgas PBMC joslas. Apļveida kustībā savāciet PBMC joslu Ficoll saskarnē un pārvietojiet jaunās 15 ml mēģenēs.
7. Divreiz mazgājiet izolētus PBMC 5 ml 1x PBS, centrifugējiet šūnu suspensiju ar ātrumu 400xg 10 min  $23^{\circ}\text{C}$  (istabas temperatūra) ar bremzēm un akseleratoru iestatītiem uz maksimumu.
8. Šūnas atšķaidiet proporcijā 1:10 ar 1x PBS un sterili filtrētu Trypan Blue šķīdumu 0,4%. Saskaitiet šūnas, izmantojot šūnu skaitītāju vai mikroskopu. Iepriekš reģistrējiet novēroto šūnu skaitu un šūnu dzīvotspēju, pirms tās ir gatavas izmantošanai kriokonservēšanā.

#### PBMCs kriokonservēšana

1. Cryovials (rakstiet tos kopā ar nenodzēšamo marķieri: vārds, datums, koncentrācija un saturs).
2. Sagatavojiet saldēšanas barotni: 10% DMSO un 90% FBS (liellopu augļa serums).
3. Lai atdzēsētu PBMC, pēc otrās mazgāšanas viss supernatants ir jānoņem no PBMC.
4. Šūnas resuspendē 1 ml uz  $5-10 \times 10^6$  PBMCs saldēšanas barotnēs.
5. 1 ml šūnu suspensijas sadala uz ne vairāk kā uz 4 krioviāliem.
6. Ielieciet krioviālus saldēšanas traukā (istabas temperatūrā), ievietojiet saldēšanas trauku  $-80^{\circ}\text{C}$  saldētavā 8-12h (uz nakti).
7. Pārnēsiet šūnas uz šķidru slāpekli vai  $-160^{\circ}\text{C}$  ilgstošai uzglabāšanai.

APSTIPRINĀTS  
Rīkojums Nr.1.1-16/12  
2020.gada 31.augusts

## COVID-19 BIOLOĢISKO PARAUGU APSTRĀDES DROŠĪBAS INSTRUKCIJA

*Pamats: Valsts pārvaldes iekārtas likuma  
72.panta pirmās daļas 2.punkts un  
73.panta pirmās daļas 4.punkts*

### 1. VISPĀRĪGIE JAUTĀJUMI

- 1.1. Šī instrukcija nosaka darba kārtību Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centra (turpmāk - BMC) Infekciozā boksa telpās, apstrādājot COVID-19 pacientu bioloģiskos paraugus.
- 1.2. Šī instrukcija jāievēro visiem BMC darbiniekiem, kas strādā ar COVID-19 infekciozu bioloģisko materiālu.
- 1.3. Instrukcija ir izstrādāti balstoties uz:
  - 1.3.1. Pasaules veselības organizācijas (turpmāk - PVO) vadlīnijām “*Laboratory biosafety guidance related to the novel coronavirus (2019-nCoV)*”, izdotas 2020. gada 12. februārī;
  - 1.3.2. PVO vadlīnijām “*Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases*” izdotas 2020. gada 19. martā;
  - 1.3.3. PVO rokasgrāmatu “*Laboratory biosafety manual*” trešais izdevums, 2004.

### 2. COVID-19 PARAUGU NOGĀDĀŠANA BMC

- 2.1. COVID-19 bioloģiskie paraugi uz BMC tiek transportēti atbilstoši UN3373 “Bioloģiskā substance Kategorija B”, ietverot šādus drošības pasākumus:
  - 1.1.1. stobriņiem un citiem paraugus saturošiem konteineriem ir jābūt ievietotiem stabilā statīvā, tam jābūt ievietotam pret noplūdi drošā iepakojumā, kura iekšpusē ievietots mitrumu uzsūcošs materiāls. Šis iepakojums jāievieto triecienizturīgā pārvadājuma konteinerā;
  - 1.1.2. paraugu saņemšanas un nodošanas laikā tiecienizturīgais konteiners jāpārņēš uzvelkot cimdus;
  - 1.1.3. pirms konteīnera paņemšanas jāveic tā virsmas dezinfekcija, apstrādājot to ar dezinficējošu šķīdumu;
  - 1.1.4. pēc vajadzības veic atkārtotu konteīnera virsmas vai cimdu dezinfekciju;
  - 1.1.5. nogādājot konteīneru ar paraugiem BMC, tas uzreiz jānovieto infekciozā boksa telpās speciāli tam paredzētā vietā (ledusskapī pie +4±2°C).

### 3. DARBS AR COVID-19 PARAUGIEM INFEKCIOZAJĀ BOKSĀ

- 3.1. Visas darbības ar COVID-19 infekcioziem paraugiem (pirms to inaktivācijas) tiek veiktas 2. biodrošības līmeņa laboratorijā validētā biodrošības laminārā.
- 3.2. Visas darbības ar COVID-19 infekcioziem paraugiem tiek veiktas, lietojot atbilstošus individuālās aizsardzības līdzekļus: cimdus, halātus, aizsargbrilles vai maskas atkarībā no veicamās darbības un vajadzībām.
- 3.3. COVID-19 paraugus nedrīkst izņemt no pārvadāšanai paredzētā iepakojuma ārpus lamināra.
- 3.4. Uzsākot darbu, iepakotie paraugi jānovieto laminārā, kurā ir ieslēgta laminārā plūsma, iepakojuma virsma jāapstrādā ar dezinficējošu šķīdumu.
- 3.5. Izņemot stobriņus ar bioloģisko materiālu no iepakojuma tie jānotīra ar dezinfektantā izmērcētu salveti un jānovieto statīvā, kas novietots laminārā.
- 3.6. Visās laboratorijas darbībās ar COVID-19 paraugiem jāievēro “Labas mikrobioloģiskās prakses un procedūras” pamatprincipus.

### 4. “LABAS MIKROBIOLOĢISKĀS PRAKSES UN PROCEDŪRAS” PAMATPRINCIPI

- 4.1. Nekad neglabāt laboratorijā pārtiku vai dzērienus, kā arī personiskus priekšmetus, piemēram, mēteļus un somas. Tādas darbības kā ēšana, dzeršana, smēķēšana un/vai kosmētikas lietošana ir veicamas tikai ārpus laboratorijas.
- 4.2. Nekad nelikt materiālus, piemēram, pildspalvas, zīmuļus vai košļājamo gumiju mutē, atrodoties laboratorijā, neatkarīgi no tā, vai rokās ir uzvilkti cimdi.
- 4.3. Roku mazgāšanu nepieciešamas veikt rūpīgi, vēlams, ar siltu tekošu ūdeni un ziepēm, pirms iziešanas no laboratorijas, pēc darbībām ar jebkuru bioloģisku materiālu, tostarp dzīvniekiem.
- 4.4. Nekavējoties jāmazgā rokas, ja ir zināms vai ir aizdomas, ka kontaminācija varētu atrasties uz rokām.
- 4.5. Atklāta liesma vai siltuma avots nekad netiek atstāti bez uzraudzības un novietoti ugunsnedrošu materiālu tuvumā.
- 4.6. Pirms darba uzsākšanas laboratorijā jebkādi iegriezumi vai ievainojumi uz ādas jāpārklāj ar necaurlaidīgu materiālu (plāksteri vai ekvivalentu materiālu).
- 4.7. Pirms darba uzsākšanas laboratorijās ir jāpārlicinās, ka plānotajām darbībām ir pieejams aprīkojums un atbilstošā daudzumā ir pieejami nepieciešamie reaģenti, materiāli, ieskaitot individuālos aizsardzības līdzekļus, dezinficējošos šķīdumus un uzkopšanas materiālus, piemēram, salvetes.
- 4.8. Jānodrošina, lai visi materiāli, reaģenti un aprīkojums tiktu atbilstoši un droši uzglabāti (saskaņā ar uzglabāšanas instrukcijām), lai samazinātu negadījumu, kā piemēram, reaģentu noplūžu, vai pakļūšanas un savainošanās risku laboratorijas personālam.
- 4.9. Jānodrošina visu bioloģisko aģentu, ķīmisko un radioaktīvo vielu pareiza marķēšana.
- 4.10. Rakstiski dokumenti jāaizsargā pret piesārņojumu, izmantojot plastikāta pārklājumus, īpaši aizsargājot tos dokumentus un protokolus, kas tiek iznesti no laboratorijas.
- 4.11. Visas darbības laboratorijā jāveic rūpīgi, savlaicīgi un bez steigas. Ir jāizvairās no darba noguruma gadījumā.
- 4.12. Darba zona jāuztur kārtībā, tīra un brīva no traucēkļiem un materiāliem, kas nav nepieciešami veicamajam darbam.
- 4.13. Aizliegts lietot austiņas, kas var novērst personāla uzmanību no iekārtu vai iestādes trauksmes signālu sadzirdēšanas.
- 4.14. Atbilstoši ir jānosedz vai jānoņem jebkura rotaslieta, kas var saplēst cimdus, vai var viegli kontaminēties un tālāk izplatīt infekciozus aģentus. Ja rotaslietas vai brilles tiek regulāri valkātas, jāapsver to regulāra tīrīšana un dezinficēšana.
- 4.15. Jāatturas no jebkādu mobilo elektronisko ierīču izmantošanas (piemēram, mobilie telefoni, planšetdatori, klēpjordinatori, zibatmiņas diski, atmiņas kartes, kameras un/vai citas portatīvas ierīces, ieskaitot tās, ko izmanto DNS/RNS sekvencēšanai) laboratorijā, ja vien tas nav īpaši vajadzīgs, lai veiktu laboratorijas darbības.
- 4.16. Mobilās elektroniskās ierīces jātur vietās, kur tās nevarētu viegli tikt kontaminētas vai darboties kā infekciozu aģentu pilienu izplatītājs. Ja no šādu ierīču tuvuma bioloģiskajiem paraugiem nav iespējams izvairīties, ir jānodrošina, ka tās aizsargā fiziska barjera (piemēram, plastikāta pārklājums) vai tās jāattīra pirms iziešanas no laboratorijas.
- 4.17. Ir jāizvairās no bioloģisko aģentu ieelpošanas. Pēc iespējas jāizmanto metodes, lai samazinātu aerosolu un pilienu veidošanos, strādājot ar paraugiem.
- 4.18. Jāizvairās no jebkādas bioloģisko parauga saskares ar ādu un acīm.
- 4.19. Strādājot ar paraugiem, vienmēr jāvalkā vienreiz lietojamus cimdus.
- 4.20. Nedrīkst aizskart seju ar rokām, strādājot ar infekciozu materiālu.
- 4.21. Darbību laikā, kad var rasties šlakatas vai pilieni, jāaizsargā mute, acis un seja.
- 4.22. Darbības ar asiem priekšmetiem un adatām jāveic uzmanīgi, lai izvairītos no savainojumiem un bioloģisko aģentu injekcijas.
- 4.23. Pēc iespējas, jānomaina stikla piederumi ar plastmasas materiāliem.
- 4.24. Darbā, kam nepieciešamas šķēres, jāizmanto šķēres ar neasiem vai noapaļotiem galiem.
- 4.25. Ampulu drošai lietošanai jāizmanto ampulas atvērējus. Jāsamazina jebkādi riski, kas saistīti ar šļirci vai adatu lietošanu.
- 4.26. Nekad nedrīkst atskrūvēt vai izņemt adatas no vienreizējās lietošanas šļircēm.
- 4.27. Visi asie materiāli (piemēram, adatas, adatas, kas savienotas ar šļircēm, stikla lauskas) tiek izmesti necaurduramā konteinerā, kas aprīkots ar aizzīmogotiem vākiem.
- 4.28. Darbības, kas jāveic, lai ierobežotu iespējamo infekciozo aģentu izplatību:
  - 4.28.1. Paraugi un kultūras jāizmet hermētiskos konteineros. Maisiem bioloģisko materiālu savākšanai jābūt kārtīgi nostiprinātiem īpašajos atkritumu konteineros.

- 4.28.2. Atverot stobriņus ar infekciozu materiālu jāizmanto dezinficējošā šķīdumā izmērcētu salveti vai marli.
- 4.28.3. Darba virsmas jāapstrādā ar piemērotu dezinfekcijas līdzekli darba procedūru beigās un gadījumos, ja kāds materiāls ir izlijis vai acīmredzami kontaminēts.
- 4.28.4. Ja ir notikusi vai radušās aizdomas, ka ir notikusi infekcioza materiāla noplūde vai virsmu kontaminācija, ir jāveic tālākas kontaminācijas izplatības ierobežošana un nekavējoties jāziņo Genoma centra laboratorijas vadītājam Evijai Stankevičai mob. 29272554. Gadījumos, kad tas neizdodas, citam atbildīgajam personālam (Genoma centra vadītājam vai BMC Darba aizsardzības speciālistam).
- 4.28.5. Lai nodrošinātu, ka dezinfekcijas līdzeklis ir efektīvs pret infekciozo aģentu, jānodrošina, ka dezinficējošais šķīdums ir saskarē ar iespējamo infekcijas aģentu pietiekami ilgu laiku, lai panāktu tā pilnīgu inaktivāciju.

## 5. CITI NOTEIKUMI

- 5.1. Papildus šiem noteikumiem darbiniekiem, kas strādā infekciozajā boksā jānoskatās PVO Biodrošības pamatprincipu apmācības video, kas atrodami šeit - <https://www.who.int/ihr/publications/biosafety-video-series/en/>.

### Informācija par COVID-19 slimības izpēti

#### **Cienījamā kundze!/Godātais kungs!**

Jums ir piedāvāta iespēja piedalīties “COVID-19 pacientu un šo slimību pārslimojušo cilvēku bioloģisko materiālu un saistīto datu infrastruktūras resursu veidošana, un SARS-CoV-2 un COVID-19 izpēte” projektā. Rūpīgi izlasiet šo informāciju par pētījuma mērķiem un norisi.

#### **Pētījuma mērķis**

Projekta mērķis ir veidot Latvijā saslimušo COVID-19 pacientu un šo slimību pārslimojušo cilvēku bioloģisko materiālu un datu kopu, lai veiktu vīrusa izplatības monitorēšanu un ierobežošanu Latvijā, veiktu SARS-CoV-2 vīrusa un COVID-19 izpēti, sekmētu individualizētu terapiju izstrādi un uzlabotu ārstēšanu. Projekts tiek veikts sadarbojoties vairākām zinātniskām institūcijām Latvijā – Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centram, Rīgas Stradiņa universitātei, Latvijas Universitātei. Projekta īstenošanas nodrošināšanai Jūs bioloģiskie paraugi un/vai medicīniskā informācija, izņemot Jūs identificējošu informāciju, var tikt nodota minētajām institūcijām.

#### **Pētījuma norise**

Projekta ietvaros ir paredzēts iegūt Jūsu bioloģiskos paraugus – asinis, deguna/kakla uztriepes, urīnu un fēču paraugu 2 reizes – COVID-19 slimības laikā un 7-10 dienas pēc izveseļošanās.

#### Bioloģisko paraugu ieguve.

Asinis un deguna/rīkles gļotādas uztriepes un izelpas paraugus pētījumam paņems īpaši apmācīts medicīnas personāls tāpat kā parastām diagnostiskām analīzēm – ar steriliem piederumiem, atbilstošās telpās un neradot bīstamību veselībai. Fēču un urīna paraugus ievāksiet Jūs un medicīnas darbinieks Jums pirms tam paskaidros ievākšanas kārtību. Izelpas paraugu analīze notiks, veicot izelpu īpašā analizatorā, vai arī savācot izelpu absorbentu caurulītes. Pētījumā tiks izmantots arī uztriepju paraugs, ko Jūs nodevāt vīrusa noteikšanai diagnostikas laboratorijā. Pēc izveseļošanās projekta darbinieks ar Jums sazināsies un Jūs saņemsiet instrukciju, kā nodot paraugus pēc izveseļošanās. Mums ir svarīgi saņemt no Jums paraugus gan slimībā, gan veselībā, lai varētu labāk izprast slimības un infekcijas norisi.

#### Medicīnisko un izpētes datu ieguve.

Pētījuma laikā paredzēts ievākt un uzkrāt medicīniskos datus (anketas un informāciju par Jūsu veselību un ārstēšanu) un pētījuma rezultātus (biomolekulārās analīzes Jūsu paraugos) vienotā datu bāzē, kas būs pieejama tikai autorizētiem mediķiem, pētniekiem un medicīnas datus uzturošām un pārvaldošām institūcijām. Šie dati tiks papildus izmantoti pētniecībā, lai noskaidrotu, kas nosaka cilvēka uzņēmību pret vīrusu, kā šo uzņēmību ietekmē cilvēka imūnsistēma un kādas bioloģiskās īpatnības nosaka vieglāku vai smagāku slimības norisi. Šādas zināšanas var palīdzēt izstrādāt efektīvus COVID-19 novēršanas un ārstēšanas veidus, izveidot jaunus medikamentus un vakcīnas. Datu ievākšana notiks sadarbībā ar Slimību profilakses un kontroles centru un medicīnas iestādēm, ievērojot visas normatīvajos aktos noteiktās prasības šādu datu saņemšanai un apstrādei.

#### Bioloģisko paraugu pētniecība.

Jūsu ziedotajā paraugā tiks pētīti faktori, kas palīdzētu raksturot cilvēku uzņēmību pret vīrusu, organisma imūnsistēmas darbību vīrusa infekcijas laikā un pēc pārslimošanas, un, skaidrot slimības norises gaitas smagumu atkarībā no individuāliem molekulāriem faktoriem. Tiks pētīts vīrusa SARS-CoV-2 genoms un vīrusa darbības mehānismi. No ievāktās informācijas un iegūtajiem pētniecības rezultātiem tiks veidota COVID-19 datu kopa, kas tiks izmantota medicīniskos, epidemioloģiskos un pētnieciskos nolūkos. Pētniecības nolūkos Jūsu paraugi vai to daļas, kā arī medicīniskā informācija, bet ne personas dati, tiks nodoti COVID-19 izpētes projektiem Rīgas Stradiņa universitātē, Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā, Latvija Universitātē. Dati tiks nodoti tikai tādiem pētniecības projektiem, kas saistīti ar COVID-19 vai SARS-CoV-2 izpēti, un ir ieguvuši visas nepieciešamās atļaujas pētniecībai.

COVID-19 un SARS-CoV-2 izpēte nākotnē. Izmantojot Jūsu ziedoto bioloģisko materiālu, arī nākotnē būs iespējams veikt COVID-19 un SARS-CoV-2 izpēti, kā arī, lai noteiktu infekcijas un slimības radīto psiholoģisko slogu, Jūs varat tikt izaicināts piedalīties aptaujās un sociālantropoloģiskos pētījumos nākotnē. Ja piekrītat iespējai, ka varam ar Jums sazināties piekrišanas iegūšanai papildus izpētei, lūdzu atzīmējiet to Piekrišanas formā.

### **Mēs garantējam, ka:**

- Pētījuma veikšanas laikā aužu paraugi un saistītie dati tiks šifrēti, neminot personas datus;
- Publiskojot šos rezultātus, netiks minēts Jūsu vārds vai citādi identificēta Jūsu persona;
- Pētījuma rezultāti netiks izpausti darba devējam, apdrošināšanas kompānijām vai citai trešajai personai;
- Pētījuma rezultāti negatīvi neietekmēs Jūsu ārstēšanas kvalitāti.

### **Iespējamie riski:**

Piedalīšanās pētījumā Jūsu veselībai nenodarīs nekādu ļaunumu, jo pētījuma laikā tiks izmantoti iegūtie asins paraugi un ievāktas uztriepes. Asinis, uztriepes un izelpas paraugus ņems apmācīts personāls ar sterilu, vienreizlietojamu aprīkojumu, fēces un urīnu Jūs ievāksiet pats. Izelpas paraugu iegūšanas gadījumā aprīkojuma daļas, kas saskaras ar lūpām, tiek izmantotas tikai vienam izmeklējumam. Jūsu ieelpotā gaisa plūsma nesaskaras ar citu pacientu elpas plūsmu. Tomēr padziļināta elpošana izelpas savākšanas laikā var būt saistāma ar galvas reiboni, citām parādībām.

### **Datu konfidencialitāte un programmas dalībnieka tiesības**

Jūsu piedalīšanās COVID-19 slimības izpētē būs zināma tikai Jūsu ārstam un, saziņas vajadzības gadījumā, projekta darbiniekam, un netiks izpausta bez Jūsu piekrišanas. Jūsu privātās informācijas aizsardzību nodrošina Genoma izpētes likums, Ārstniecības likums, Pacientu tiesību likums, Eiropas parlamenta un padomes regula (ES) 2016/679 par fizisku personu aizsardzību attiecībā uz personas datu apstrādi un šādu datu brīvu apriti un ar ko atceļ Direktīvu 95/46/EK (Vispārīgā datu aizsardzības regula) un Fizisko personu datu apstrādes likums. Visi iegūtie paraugi un informācija tiks kodēti un zinātniekiem, kuri pētīs Jūsu bioloģisko materiālu, nebūs zināms Jūsu vārds, uzvārds vai personas kods. Šī informācija glabāsies vietā ar ierobežotu pieejamību, un būs pieejama tikai projekta darbiniekiem, lai ar Jums sazinātos par citiem ar COVID-9 vai SARS-CoV-2 izpētes projektiem, ja Jūs šādu saziņu atļausiet atzīmējot to Piekrišanas formā.

### **Brīvprātīga piedalīšanās**

Jūsu piedalīšanās izpētē ir brīvprātīga un tā nekādā veidā neietekmēs Jūsu ārstēšanas kvalitāti un ārsta attieksmi pret Jums.

### **Iespējamie ieguvumi**

Jūs varat iepazīties ar izpētes rezultātiem LR Cilvēka genoma izpētes likumā noteiktajā kārtībā. Šis projekts ir vērst, lai sekmētu COVID-19 izpēti, kas varētu palīdzēt nodrošināt efektīvāku diagnostiku, ārstēšanu un iespējams novērst saslimšanu ar COVID-19 izraisīto vīrusu.

**Datu pārzinis pētījuma ietvaros:** Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs, Rātsupītes iela 1, k-1, LV1067, Rīga, Latvija, Personas datu speciālista kontaktinformācija: [info@datudrosiba.com](mailto:info@datudrosiba.com)  
Personas datu apstrādes tiesiskais pamats: Vispārīgās datu aizsardzības regulas 9. panta 2. punkta a) apakšpunkts. Ar sīkāku informāciju iespējams iepazīties BMC Privātuma politikā: <http://bmc.biomed.lu.lv/>

**Tiesības atteikties vai pārtraukt piedalīšanos pētījumā:** Piedalīšanās šajā pētījumā ir brīvprātīga. Jums ir tiesības atteikties piedalīties pētījumā vai pārtraukt dalību pētījumā jebkurā laikā. Jūsu atteikšanās piedalīties pētījumā, vai dalības pārtraukšana neradīs nekādu nevēlamu ietekmi uz Jums sniegtās veselības aprūpes kvalitāti

**Ja Jums rodas jautājumi par šo projektu, lūdzu, sazinieties ar Valsts iedzīvotāju genoma datubāzes personālu:** Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā, Rātsupītes ielā 1 k-1, Rīgā, LV – 1067, epasts: [vigdb@biomed.lu.lv](mailto:vigdb@biomed.lu.lv), tālrunis: +371 67473083 (darba laikā).

**Lūdzu, parakstiet šo piekrišanas veidlapu tikai tad, ja piekrītat dalībai šajā pētījumā un esat saņēmis izsmēlošas un apmierinošas atbildes uz visiem saviem jautājumiem!**

### Piekrīšanas veidlapa

#### **Dalībai projektā “COVID-19 pacientu un šo slimību pārslimojušo cilvēku bioloģisko materiālu un saistīto datu infrastruktūras resursu veidošana, un SARS-CoV-2 un COVID-19 izpēte”**

Apliecinu (aizpilda pacients/ viņa likumiskais pārstāvis), ka esmu izlasījis (-usi) un izpratis (-usi) informācijas lapas sniegto informāciju par COVID-19 izpētes projektu.

Dr. \_\_\_\_\_

man ir izskaidrojies informāciju par COVID-19 izpētes projektu un tā norises gaitu.

- Es esmu informēts (-a), ka man ir tiesības jebkurā pētījuma norises brīdī atteikties no turpmākas līdzdalības tajā. Šādā gadījumā manu audu paraugi, veselības stāvokļa apraksts un jebkura ar personas identificēšanu saistīta informācija tiek iznīcināta.
- Apliecinu, ka man bija dota iespēja uzdot jautājumus par šo pētījumu un ka es esmu apmierināts (-a) ar man sniegtajām atbildēm un paskaidrojumiem.
- Man tika dots laiks un iespēja rūpīgi izlasīt šo informāciju un patstāvīgi izlemt, vai piedalīties šajā pētījumā.
- Apliecinu, ka neiebilstu, ka mani bioloģiskie paraugi tiks nodoti COVID-19 vai SARS-CoV-2 izpētei Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā, Rīgas Stradiņa universitātē, Latvijas universitātē
- **PIEKRĪTU, KA MANI AUDU PARAUGI UN MEDICĪNISKIE DATI TIKS IZMANTOTI COVID-19 SLIMĪBAS PĒTĪJUMIEM**
- Es piekrītu manas norādītās kontaktinformācijas izmantošanai turpmākai komunikācijai, ja šī izpētes projekta ietvaros rodas šāda nepieciešamība.
- Es piekrītu savu medicīnisko datu apstrādei.
- Es piekrītu piedalīties pētījumā.

Apliecinu, ka vēlos saņemt informāciju par iespējamu dalību citos ar COVID-19 vai SARS-CoV-2 saistītos zinātniskos pētījumos vai aptaujās

Pacienta vārds, uzvārds (drukātiem burtiem) \_\_\_\_\_

Kontaktinformācija \_\_\_\_\_

Adrese \_\_\_\_\_

Tālrunis \_\_\_\_\_

E-pasts \_\_\_\_\_

Pacienta paraksts \_\_\_\_\_ datums \_\_\_\_\_

(dd.mm.gg., datē pacients, viņa likumiskais pārstāvis)

#### **Nepilngadīga pacienta gadījumā aizpilda viens no likumiskajiem pārstāvjiem:**

Pacienta māte \_\_\_\_\_ (vārds, uzvārds, paraksts)

Pacienta tēvs \_\_\_\_\_ (vārds, uzvārds, paraksts)

Ārsta – pētnieka vārds, uzvārds (drukātiem burtiem) \_\_\_\_\_

Ārsta – pētnieka paraksts: \_\_\_\_\_ datums \_\_\_\_\_