Public health

POLYMERASE CHAIN REACTION TEST FOR DETECTION OF *SARS-COV-2* VIRUS AND VARIANTS

Aneta Peshnachka[1], Golubinka Boshevska[1], Nevenka Velichkova[2], Elizabeta Jancheska[1], Maja Vukovikj[1], Teodora Buzharova[1], Gordana Nikolovska[1], Ardian Preshova[1], Shaban Memeti[3]

[1] *Institute of Public Health of the Republic of North Macedonia, Skopje, Republic of North Macedonia*
[2] *Goce Delchev University, Faculty of Medical Sciences, Stip, Republic of North Macedonia*
[3] *Institute of Public Health of the Republic of North Macedonia; Ss. Cyril and Methodius University in Skopje, Faculty of Medicine, Republic of North Macedonia*

Citation: Peshnachka A, Boshevska G, Velichkova N, Jancheska E, Vukovikj M, Buzharova T, Nikolovska G, Preshova A, Memeti S. Polymerase chain reaction test for detection of *SARS-CoV-2* virus and variants. Arch Pub Health 2022; 14 (1).44:53.

doi.org/10.3889/aph.2021.6030

Key words: *SARS-CoV-2*, RT-PCR, variant of Concern - VOC, variant of interest - VOI

***Correspondence:** Aneta Peshnachka, Institute of Public Health of the Republic of North Macedonia, Skopje, Republic of North Macedonia. E-mail: apesnacka@yahoo.com

Received: 13-Oct-2021; **Revised:** 20-Nov-2021; **Accepted:** 1-Dec-2021; **Published:** 23-Jun-2021

Copyright:© 2021. Aneta Peshnachka, Golubinka Boshevska, Nevenka Velichkova, Elizabeta Jancheska, Maja Vukovikj, Teodora Buzharova, Gordana Nikolovska, Ardian Preshova, Shaban Memeti. This is an open-access article distrib-uted under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited.

Competing Interests: The author have declared that no competing interests

Abstract

The first human cases of coronavirus disease (COVID-19), a disease caused by the new coronavirus, was reported on December 31, 2019 in China for the first time. The virus was named temporarily as 2019 new coronavirus (2019 novel coronavirus-2019 -nCoV), or finally as *SARS-CoV-2*. The aim of this paper is to give an overview of the laboratory detection of *SARS-CoV-2* virus with reverse transcriptase - polymerase chain reaction (RT-PCR) in real time, as well as detection of viral mutations in the Laboratory for virology at the Institute of Public Health. The samples used in the study were taken from all geographical regions in North Macedonia, including the 10 regional Centers for Public Health throughout the country, from hospital patients, from COVID19 hospitals across the country and from the COVID19 checkpoint at the Institute of Public Health. All samples were tested using RT-PCR in real time. Additional assays were applied for identification of the circulating variants. The continuous surveillance of the variants of concern (VOC), as well as the newly emerged variants can allow the public health officials to modify their approach to disease control and management and intervene more effectively as well as in a timely manner in order to prevent major morbidity and mortality from COVID-19.

Јавно здравје

ПОЛИМЕРАЗНО ВЕРИЖНА РЕАКЦИЈА ЗА ДЕТЕКЦИЈА НА SARS COV-2 ВИРУС И ВАРИЈАНТИ

Анета Пешначка[1], Голубинка Бошевска[1], Невенка Величкова[2], Елизабета Јанчевска[1], Маја Вуковиќ[1], Теодора Бужарова[1], Гордана Николовска[1], Ардиан Прешова[1], Шабан Мемети[1,3]

[1] *Институт за јавно здравје Република Северна Македонија, Скопје, Република Северна Македонија,*
[2] *Универзитет Гоце Делчев, Штип, Факултет за медицински науки, Република Северна Македонија,*
[3] *Институт за јавно здравје Република Северна Македонија; Универзитет Св. Кирил и Методиј во Скопје, Медицински факултет, Република Северна Македонија.*

Цитирање: Пешначка А, Бошевска Г, Величкова Н, Јанчевска Е, Вуковиќ М, Бужарова Т, Николовска Г, Прешова А, Мемети Ш. Полимеразно верижна реакција за детекција на ***SARS CoV-2*** вирус и варијанти. Арх Ј Здравје 2022;14(1) 44:53.

doi.org/10.3889/aph.2021.6030

Клучни зборови: *SARS-CoV-2* вирус, РТ-ПВР, варијанти на загриженост, варијанти на интерес.

***Кореспонденција:** Анета Пешначка. Институт за јавно здравје Република Северна Македонија, Скопје, Република Северна Македонија. E-mail: apesnacka@yahoo.com

Примено:13-окт-2021; **Ревидирано:**20-ное-2021; **Прифатено:** 1-дек-2021; **Објавено:** 23-јун-2021

Печатарски права: ©2021 2021 Анета Пешначка, Голубинка Бошевска, Невенка Величкова, Елизабета Јанчевска, Маја Вуковиќ, Теодора Бужарова, Гордана Николовска, Ардиан Прешова, Шабан Мемети. Оваа статија е со отворен пристап дистрибуирана под условите на нело-кализирана лиценца, која овозможува неогра-ничена употреба, дистрибуција и репродукција на било кој медиум, доколку се цитираат ори-гиналниот(ите) автор(и) и изворот.

Конкурентски интереси:Авторот изјавува дека нема конкурентски интереси.

Извадок

Првите хумани случаи на болеста КОВИД-19 (coronavirus disease 2019- COVID-19), болест предизвикана од новиот коронавирус, за прв пат се пријавени на 31 декември 2019 година во НР Кина, кога вирусот го добил привременото име 2019 нов коронавирус (2019 novel coronavirus -2019-nCoV) или подоцна *SARS-CoV-2*. Целта на овој труд е да се прикаже процесот на лабораториска детекција на *SARS-CoV-2* вирусот со реверзна транскриптаза - полимеразно верижна реакција (РТ-ПВР) во реално време, како и протоколот за детекција на варијантите на *SARS-CoV-2* во Лабораторијата за вирусологија при Институтот за јавно здравје (ИЈЗ). Тестирани се примероци од суспектни пациенти за КОВИД-19 од територијата на цела држава за лабораториска детекција на *SARS-CoV-2*. Примероците пристигнуваат од 10-те регионални центри за јавно здравје (ЦЈЗ), од хоспитализирани пациенти од ковид болниците низ државата и од пунктот за ковид при ИЈЗ. Сите примероци се тестирани со примена на РТ-ПВР во реално време со детекција на различни гени на вирусот. Дополнителни анализи се прават за идентификација на циркулирачките варијанти. Континуираниот надзор на варијантите за загриженост (variants of concern - VOC), како и новонастанатите варијанти може да им овозможат на здравствените служби да го модифицираат својот пристап кон процесот на контрола и управување на болеста и да интервенираат ефикасно и навремено, со цел да се спречи голем морбидитет и смртност од КОВИД-19.

Вовед

Пандемијата со КОВИД-19 официјално е објавена од страна на Светската здравствена организација (СЗО) на 30 јануари 2020 година и предизвика зголемување на стапките на морбидитет и морталитет низ целиот свет.[1] Стратегиите за ограничување на пандемијата се потпираат на брзата и чувствителна лабораториска дијагноза за детекција на цели од вирусниот геном на *SARS-CoV-2* кај респираторни примероци. Еден од многуте фактори кои имаат влијание врз веродостојноста на дијагностичките протоколи може да е генетската варијабилност на *SARS-CoV-2* . Всушност, мутациите коишто се случуваат за време на геномската еволуција на *SARS-CoV-2* вирусот може да бидат во конзервирани региони за кои се дизајнирани повеќето комерцијални прајмери и проби. Имајќи ја предвид континуираната појава на нови варијанти, ситуацијата треба да се следи постојано, како и да се применуваат протоколи за лабораториска дијагностика кои се насочени кон повеќе целни гени на детекција.

Целни гени на детекција се четирите структурни протеини: трансмембрански гликопротеин - spike (S), протеин на обвивката - envelope (E), мембрански протеин - membrane (M), нуклеокапсиден протеин - nucleocapsid (N) и неструктурен протеин – (важен за формирање на комплексот репликаза транскриптаза) - open reading frame (ORF).[2] Вирусите имаат кратко генерациско време, особено РНК вирусите и имаат релативно високи стапки на мутација. Неопходно е да се следат циркулирачките варијанти со клучни мутации на *SARS-CoV-2* што се случуваат најчесто во рамките на S протеинот и кои можат да доведат до зголемување на трансмисибилната моќ на вирусот.[3] Повеќекратни мутации може да доведат до појавување на нови варијанти кои може да влијаат на текот на пандемијата и клиничката слика на заразените.

Зависно од тоа дали варијантите на *SARS-CoV-2* ја менуваат клиничката слика и сериозност, воспоставени се системи во СЗО за откривање на потенцијални варијанти на загриженост (variant of Concern - VOC) или варијанти на интерес (variant of interest - VOI) и истите се проценуваат врз основа на ризикот што го носат за глобалното јавно здравје.[3]

Цел на овој труд е да се прикаже процесот на лабораториска детекција на *SARS-CoV-2* вирусот со реверзна транскриптаза - полимеразно верижна реакција (РТ-ПВР) во реално време, како и протоколот за детекција на варијантите на *SARS-CoV-2* во Лабораторијата за вирусологија при Институтот за јавно здравје, како лабораторија одговорна за следење на вирусните заболувања со јавноздравствено значење, вклучително и *SARS-CoV-2*.

Материјали и методи

Примероци за лабораториска детекција на *SARS-CoV-2* се земаат од пунктот при Институтот за јавно здравје (ИЈЗ), пунктовите низ целата држава во центрите за јавно здравје, пунктовите при поликлиниките во Скопје и сите КОВИД болници и се транспортираат до Лабораторијата, по претходно дефинирани протоколи објавени на страната на ИЈЗ[4,5] и спроведен тренинг од страна на тим од ИЈЗ за сите КОВИД-болници.

Примерокот за анализа е најчесто комбиниран назо- и орофарингеален брис од еден пациент. Примероците се транспортираат следејќи го правилото „тројно пакување“.[6]

Во процесот на мануелна изолација користени се китови од различни

производители, но најчест метод кој се применува е QIAamp Viral RNA kit (од производителот Qiagen, GmbH, Германија).[7] Процесот на изолација на РНК е процес кој се извршува во кабинет за биобезбедна работа (КБР) од класа 2.

При автоматска изолација на РНК се користи технологијата со магнетни честички од различни производители (MagBind кит за екстракција на MaccuraBiotechnology,[8] AbGenix Viral Dna/Rna на AITbiotech,[9] M Sorb – S на Sacace за SaMag – 96 автоматски систем,[10] Applied Biosystems™ MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit на апарат за автоматска изолација KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor with 96 Deep-Well Head),11 во согласност со препораките од производителот. Подготовката на примероците исто така се врши во КБР класа 2.

Добиената РНК се вклучува во реверзна транскриптаза – полимеразно верижна реакција (РТ-ПВР) во реално време за детекција на целните гени.[27]

Реакцијата на амплификација се одвива во апарати за ПВР во реално време – термосајклери, и тоа: CFX 96 (од производителот BioRad) и Quant Studio 5 (од производителот Applied Biosystem) и DNA Technology DTLite 5. Дополнително се користи Xpert® Xpress *SARS-CoV-2* од производителот Cepheid кој детектира N и E ген RT-PCR/поединечен тест, со време на изведба од 45 мин.[12]

Користени се молекуларни дијагностички тестови за откривање на вирусен генетски материјал на *SARS-CoV-2* достапни на Есенцијалната листа на китови од СЗО и Американската агенција за лекови(FDA) како што се: 2019-nCoV“ Allplex™,[13] BGI,14 Nucleic Acid Diagnostic Kit“ – Sansure Biotech,[15] Charite- Diagnostic detection of Wuhan coronavirus 2019 by real-time RT-PCR,[16] RealTime SARS-CoV-2“ – EUROIMMUN,[17] TaqMan 2019-nCoV Assay Kit v1,[18] *SARS-CoV-2* Fluorescent PCR“ – Maccura,[19] „TaqPath™ COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kit“,[20] SARS-CoV-2/Influenza Multiplex на Dna –Technology,[21] Genrui *SARS-CoV-2* Detection Kit RT-PCR22 и се употребени во согласност со препораките на производителот.

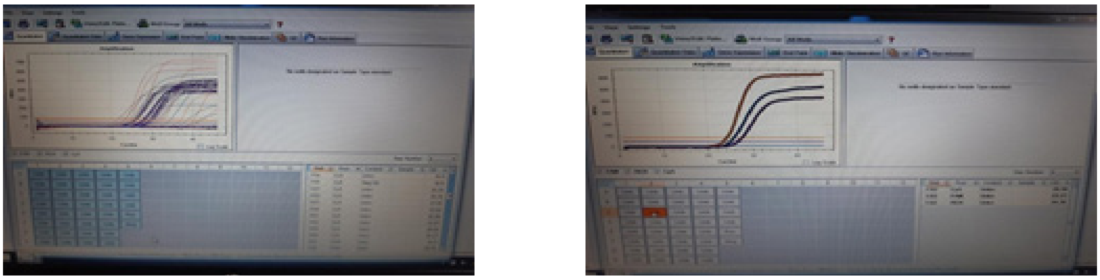
Следејќи ги препораките на СЗО и Европскиот центар за контрола на болести (ECDC), користени се и повеќенаменски молекуларни тестови со мулти-целен дизајн и следено е отсуство на S-ген кој е најчеста мета на мутација.[23] Примероците кај кои е детектиран недостаток (S gene dropout) или појава на S генот во доцен циклус со TaqPath или Genrui китовите, а позитивни на другите таргети до 25 циклус, дополнително се тестирани на Bio-Speedy® *SARS-CoV-2* Variant Plus RT-qPCR.[24]

SARS-CoV-2 Variant plus RT-qPCR во реално време е тест во еден чекор, наменет за квалитативно диференцирање на B.1.1.7 (алфа варијанта), Б.1.351 (бета варијанта) и P.1 (гама варијнта) скрининг анализа за да се прикажат VOC (24). Паралелно респираторните примероци се тестирани на VirSNiP *SARS-CoV-2* Spike N501Y дијагностички тест базиран на точка на топење (melting curve), т.н. single nucleotide polymorphism (SNP) тест каде со примена на специфична проба се детектира 501Y мутацијата.[15,25]

Резултати

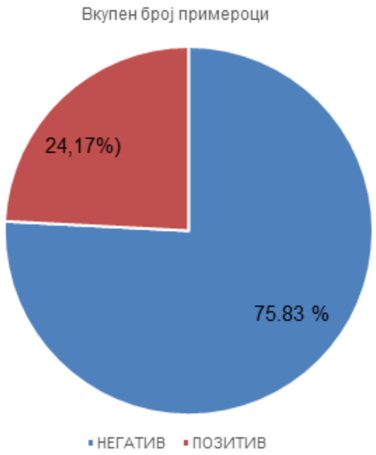
РТ-ПВР методот во реално време за детекција на *SARS-CoV-2* со детекција на E генот, RdRP и N генот е воведен во Лабораторијата за вирусологија на 2 февруари 2020 година. Првиот случај со КОВИД-19 е детектиран на 26 февруари 2020 година. Од детекцијата на првиот случај заклучно со 30 септември 2021 година анализи-

рани се 244.228 примероци од наведените COVID-19 пунктови. Позитивни примероци на *SARS-CoV-2* вирусот се 59.051 (24,17%) (графикон 1, слика 1 и 2).



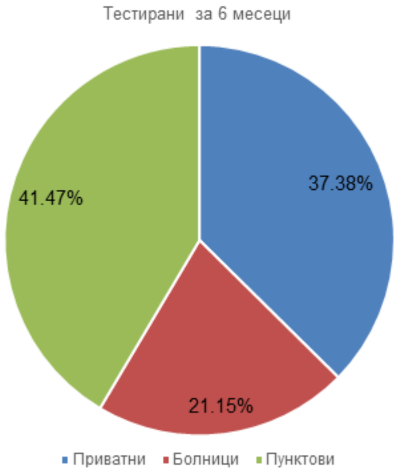
Слика 1 и 2. Амплификациски криви со РТ-ПВР во реално време

Графикон 1. Приказ на вкупно тестирани негативни и позитивни примероци



Во период од 6 месеци, односно од 01.04.2021 до 30.09.2021 година анализирани се примероци од центрите за јавно здравје и пунктовите во градот Скопје (22.589/41,47%), болнички примероци од сите болници низ државата (11.518/21,15%) и пациенти кои се тестирале на нивно барање (20.359/37,38%). Заклучно со месец септември оваа година направени се 244.228 тестирања со РТ – ПВР методот, од кои 59.051 биле позитивни за SARS-CoV-2(графикон 2).

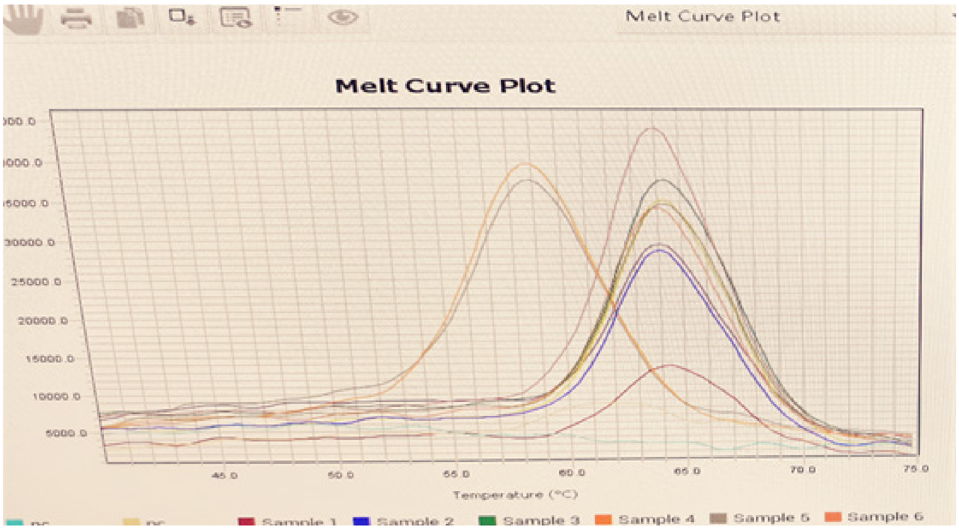
Графикон 2. Визуелен приказ на тестираните примероци и нивното место на потекло



Од месец април 2021 се прави селекција на примероци кај кои е утврдено отсуство на амплификација на S генот при користење на Thermofisher® TaqPath™ COVID-19 RT-PCR (TaqPath) и Genrui. Тестирани се вкупно 21.898, од кои 5.006, односно 22,86% се позитивни. Од овие позитивни примероци од различни региони во државата (графикон 3), по возрасни групи (графикон 4) и со Ct до 25, 320 се детектирани како алфа варијанта и 144 како делта варијанта (графикон 5) со S gene dropout (9,26%).

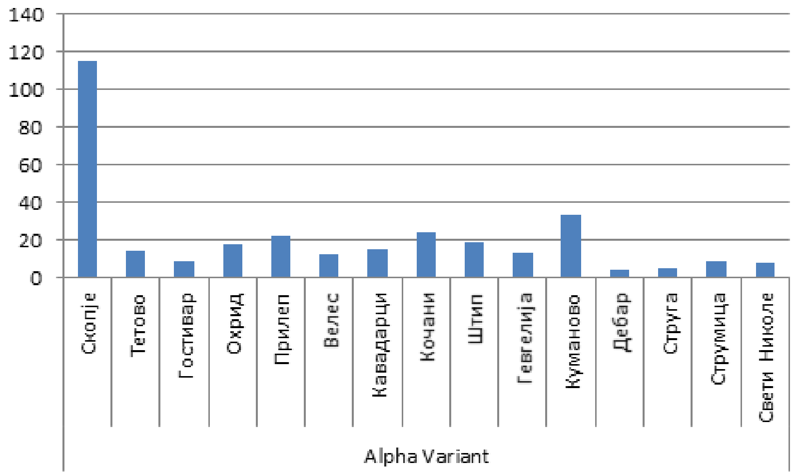
Истите изолати се анализирани со Bio-Speedy® *SARS-CoV-2* Variant Plus RT-qPCR за детекција на B.1.1.7 (алфа варијанта), Б.1.351 (бета варијанта) и P.1 (гама варијанта). Кај сите примероци е утврдено присуство на B.1.1.7 варијанта (алфа), преку детекција на мутацијата N501Y.

Кај 96 од позитивните 320 изолати, е направен дополнителен тест VirSNiP *SARS-CoV-2* Spike N501Y со приказ на точка на топење (melting curve) (слика 3). Кај сите овие примероци со овој тест е потврдено присуство на мутацијата N501Y, односно B.1.1.7 варијанта (алфа). Истиот тип е потврден со постапка на секвенционирање на селектирани 50 примероци.

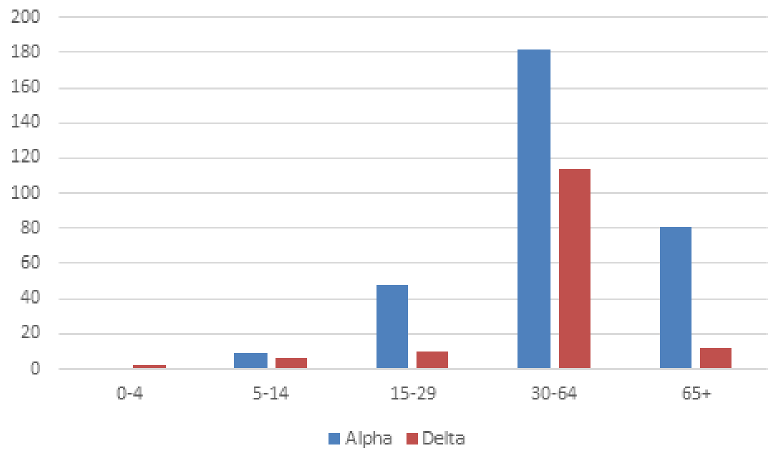


Слика 3. Резултат од SNP тест за детекција на варијанти со мутација N501Y

Графикон 3. Дистрибуција на примероци по градови за алфа варијанта

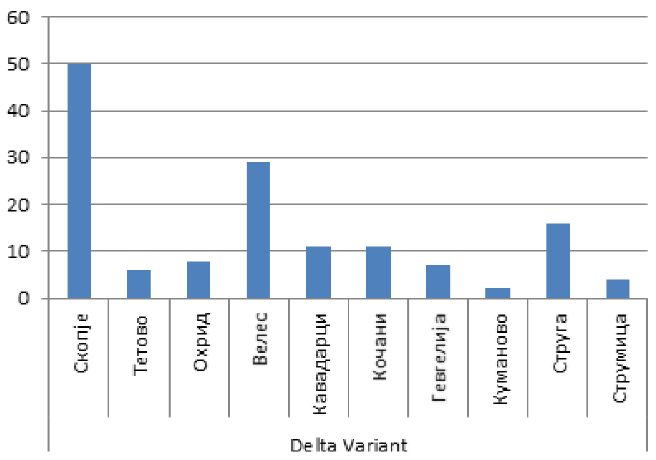


Графикон 4. Дистрибуција на примероци по возрасни групи за Алфа и Делта варијанта

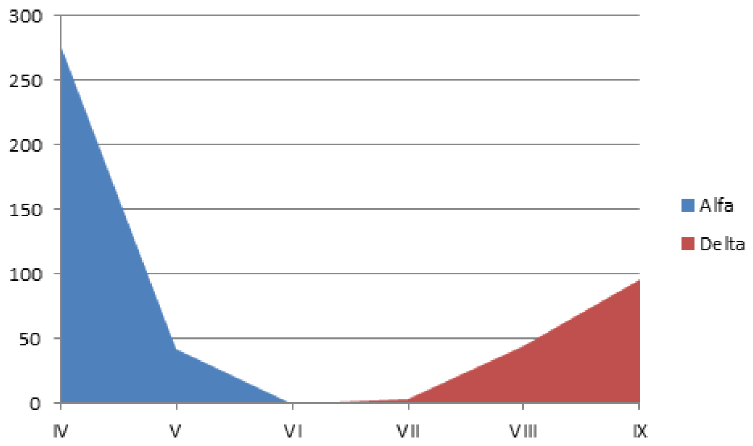


Во текот на месец јули на рутинските секвенционираните примероци детектирана е делта варијантата. Од анализираните 144 примероци на делта варијанти, 107 се позитивни (74%). Графикон 5 ја покажува географската дистрибуција на тестираните пациенти со делта варијантата.

Графикон 5. Дистрибуција на примероци по градови за делта варијанта



Графикон 6. Графички приказ на доминација на алфа и делта варијанта во период 04 – 09 месец



Со секвенционирање на позитивните промероци, бета варијантата е детектирана кај еден примерок, додека гама варијантата не е детектирана.

Дискусија

Во Лабораторијата за вирусологија при рутинската работа и за детекција на *SARS-CoV-2* се следат протоколите на СЗО за дијагностика и биосигурност за работа со *SARS-CoV-2* и добра лабораториска пракса (ДЛП).[26] За ракување со примероци за молекуларно тестирање потребно е да се обезбеди најмалку второ ниво на биобезбедност (BSL-2), додека за култивирање на вирусот потребно е минимум BSL-3.26 За примена на РТ-ПЦР тестот се применува BSL-2 односно КБР класа 2 и специфична лична заштитна опрема (ЛЗО).

Бидејќи КОВИД-19 е респираторно заболување примерок за лабораториска потврда на заболувањето се земаод горниот или долниот респираторен тракт. Респираторните примероци се земаат со суви дакронски или рајонски брисеви со пластични дршки/стапчиња во универзален вирусен транспортен медиум (ВТМ) за да се зачува виталноста на вирусот.4 Нашата препорака е од еден ист пациент да се земат и назо- и орофарингеален брис кои се ставаат во ист ВТМ заради повисоката сензитивност на комбинираниот брис.[27]

Примероците за детекција на вирусот треба да стигнат до лабораторијата што е можно поскоро по собирањето и во добра состојба. Правилното ракување со примероците за време на транспортот е од големо значење во добивањето на веродостоен резултат.[5]

Екстракцијата на нуклеинска киселина е првиот чекор од секој експеримент за амплификација, без оглед каков вид амплификација или друга молекуларна техника се користи за откривање на специфичен патоген. Процесот се изведува во кабинет за биобезбедност од класа 2 имајќи предвид дека со него се штитат примероците од контаминација, се штити здравствениот работник од заразување со потенцијално заразниот агенс и се штити надворешната средина од контаминација. При автоматската изолација на нуклеинска киселина се добива високо ниво на стандардизација, минимално можно влијание на операторот, а со тоа и на евентуална грешка при пипетирање или контаминација. Рачната и автоматска постапката вклучуваат отстранување на инхибитори и овозможуваат концентрација на изолирана РНК.

Секој примерок прво оди на тест за детекција на *SARS-CoV-2* со РТ-ПВР во реално време согласно водичот за детекција на СЗО.[27]

Вирусната едноверижна РНК која е целна секвенца прво треба да биде препишана во комплементарна ДНК со помош на ензимот реверзна транскриптаза. Во смесата од реагенси има и специфични прајмери и проби кои се комплементарни и анилираат со специфични целни региони од вирусниот геном. Добиената комплементарна ДНК (кДНК), ензимот Taq полимераза ја мултиплицира во голем број копии за кои специфично се врзуваат прајмерите и пробите. Етапите на ПВР реакција се следните: денатурација на нуклеинските киселини на 95оС; спојување на прајмерите (анилирање) на 60оС. Флуоресцентните проби се олигонуклеотидни секвенци обележани на 5’ крајот со репортер молекула (најчесто 6-карбоксифлуоресцеин- ФАМ) и на 3’

крајот молекула пригушувач. Пробите се врзуваат на различна позиција од прајмерите и благодарение на полимеразната активност на Taq ензимот се откинува пригушувачот на флуоресценција од 3' крајот и флуорофорот емитува флуоресценција во одреден спектар. Real-time PCR апаратите ја детектираат оваа флуоресценција и таа е претставена како експоненцијална крива. Точката во која т.н "background noise" го поминува прагот се означува како Ct вредност на примерокот.

Секогаш се детектираат минимум 2 целни гени (во поединечни реакции - singleplex или повеќе гени во една иста рекација- multiplex).27 Освен примероците кои се тестираат, во секоја реакција задолжително се вклучени контроли и тоа: негативна (дејонизирана вода) за да се исклучат лажно позитивните резултати; позитивна контрола (синтетски добиена РНК или РНК добиена од вирусна култура на разраснат вирус или веќе познат примерок кој бил позитивен); и внатрешна контрола која се вклучува во секој примерок од моментот на екстракција на РНК, го следи целиот процес на примерокот и служи да се исклучи лажно негативен резултат.

Отсуство на амплификација на S генот (т.н. S drop-out) може да биде сигнал за присуство на 69-70дел мутација за понатамошна истрага, особено ако капацитетот за секвенционирање е ограничен. Мултицелните тестови за РТ-ПЦР кои користат региони на S-ген погодени од мутацијата 69-70дел, се побрзи и поевтини од секвенционирање на целиот вирус и можат да помогнат да се следат овие мутантни соеви.

За детекција на варијантите се следи документот на СЗО и ЕЦДЦ за методи на детекција и идентификација на *SARS-CoV-2* варијантите и СЗО водичот за следење на варијантите.[23,28]

S gene target failure или S gene target late detection (SGTF/SGTL, соодветно) профилите идентификувани со примена на анализата TaqPath и резултатите од триплекс Bio-Speedy® *SARS-CoV-2* Variant Plus RT-qPCR се соодветни за откривање на варијантите алфа, бета и гама. Анализата за Bio-Speedy Variant Plus која ги одредува сите три тековни VOCs истовремено, може да биде вредна алатка за ограничување на ширењето на вирусот преку поддршка за следење контакт и изолација.

За време на рутинската верификација на тестот TaqPath во нашата Лабораторија со користење на стандардни примероци од тестот на компетентност (EQA) добиени од култивиран SARS-CoV-2, не се забележани SGTF наспроти појавата на SGTF во нашите податоци. Ова дополнително го потврдува влијанието на делеции и мутации во гените врз ефикасноста на на реакцијата на RT-qPCR. Објавени докази покажуваат дека присуството на мутацијата Δ69/70 во вирусниот геном, предизвикувајќи го феноменот SGTF кај тестовите TaqPath RT-qPCR, корелира со присуството на VOC/B1.1.7 во клинички примероци како што е потврдено и со секвенционирање.

Со Single Nucleotide Polymorphism (SNP) тестот за детекција на N501Y на spike генот се одредува присуството на единечна мутација која доведува до промена на температурата на топење.[25] Тестот се одвива во два чекора. Првиот чекор е амплификација при која пробите кои се употребуваат се разликуваат само во еден нуклеотид и се поврзуваат за соодветниот тип присутен во примерокот од пациентот и се де-

тектира Е генот (Е генот во оваа реакција е контрола дека прајмерите и ензимите функционираат). Вториот чекор е детекција на кривата на топење (melting curve) на spike генот. Детекцијата на типовите зависи од точката на топење. „Див тип" вирус има пониска температура на дисоцијација Tm (*SARS-CoV-2* wild type: AGTCGACTACGGTCGGCTT Tm = 59°C) додека присуството на варијантата од интерест има температура на топење на 64°C (N501Y *SARS-CoV-2* variant: AGTCGACTACGGGCGGCTT Tm = 64°C).(15) Како и во секоја реакција овде има позитивна контрола која се состои од смеса од 501N и Y.

Со брзото ширење на нова варијанта воведен е нов дополнителен скриниг тест за детекција на варијанта на загриженост Dna – Tehnology *SARS-CoV-2* DELTA RT PCR Genotyping Kit, со кој се детекираат специфични мутации L452R и T478K.21

Медицинскиот отпад се деконтаминира со негово автоклавирање пред понатамошна диспозиција што е значаен сегмент во лабораториската биобезбедност.[4]

Лична заштитна опрема (лабораториски мантил за една употреба или скафандер, респираторна заштита со респоратор маска за една употреба - N95, FFP2 или FFP3, ракавици за еднократна употреба, безбедносни очила или штит за лице и лабораториски обувки) во лабораторија е задолжителна. За поеднини сегменти од работниот процес ЛЗО се менува т.е. при движењето од еден во друг процес не смее да се користи иста ЛЗО.

Заклучоци

Добро развиените лабораториски капацитети се во основата на еден добро развиен систем за следење на заразните заболувања, а со тоа и на брзиот одговор за контрола и спречување на понатамошно ширење на кое било заразно заболување со високо патоген агенс, вклучително и SARS CoV-2. Без брза и точна лабораториска дијагностика ниеден од чекорите не е возможен. Лабораторијата за вирусологија при ИЈЗ - Скопје е одредена како национална референтна лабораторија за детекција на Ковид-19 кај луѓето. Во својата работа Лабораторијата ги следи препораките и водичите на СЗО во однос на самата дијагностика како и стандардите за биобезбедност и контрола на квалитет.

Следењето на варијантите за загриженост (VOC) и варијантите од интерес (VOI), како и на евентуалната појава на нови мутации и варијанти е една од задачите на националната лабораторија во континуитет. Ова е од особена важност ако се има предвид дека новите варијанти може да манифестираат промена во трансмисибилноста на вирусот, неговата патогеност и исход на болеста и слично, што, пак, е тесно поврзано со преземањето соодветни јавноздравствени мерки, односно корекција на актуелните јавно здравствени мерки врз основа на новонастанатата состојба.

Благодарност

Изразуваме голема благодарност до сите КОВИД-19 центри, до сите колеги од ЦЈЗ и ИЈЗ кои учествуваа во процесот на следење на SARS-CoV-2, до сите кои ја помогнаа дијагностиката со своја поддршка во тестови и опрема, пред сѐ на МЗ,СЗО, CDC, IAEA и други.

Референци

1. “WHO Director-General’s opening remarks at the media briefing on COVID-19—11 March 2020”. World Health Organization. Retrieved 11 March 2020
2. Yong SK, Su PC, Yang YS. Molecular Targets for the Testing of COVID-19. Biotechnol J. 2020 Jun;15(6):e2000152.
3. WHO/COVID-19 Weekly Epidemiological Update, Edition 42, published 1 June 2021
4. Работно упатство за начин на земање примероци од лица суспектни за КОВИД -19. Институт за јавно здравје достапно на: http://iph.mk
5. http://iph.mk/postapka-za-transport-na-primeroci-za-laboratoriska-analiza-za-sars-cov-2-covid-19-od-bolnici-centri-za-javno-zdravje-i-sobirni-punktovi/
6. Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2019 – 2020: applicable from 1 January 2019. Available at: https://apps.who.int/iris/handle/10665/325884
7. QIAGEN®, QIAamp® Viral RNA Mini Handbook. Available at: https://www.qiagen.com › resources
8. Maccura Biotechnology Co., Ltd, Mag-Bind RNA Extraction Kit. Available at: https://www.maccura.com/en/product
9. Viral DNA and RNA Extraction kit (Plate). Available at: https://aitbiotech.com/abGenix
10. SaMag-96 Nucleic Acids Purification System Available at: https://sacace.com/public_ftp/sacace-samag-96.zip
11. Thermo Scientific™- MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid, Isolation Kit достапно на: https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/A48383#/A48383
12. Xpert® Xpress SARS-CoV-2. Available at https://www.cepheid.com/en_US/tests/Critical-Infectious-Diseases/Xpert-Xpress-SARS-CoV-2
13. Allplex 2019-nCoV Assay. Available at: https://www.seegene.com/assays/allplex_2019_ncov_assay#
14. BGI’s Real-Time Fluorescent RT-PCR kit Available at: https://www.bgi.com/global/molecular-genetics/2019-ncov-detection-kit/
15. Sansure Biotech. Available at:

    http://www.sansureglobal.com/product/novel-coronavirus2019-ncov-nucleic-acid-diagnostic-kit-pcr-fluorescence-probing-2/
16. Charite- Diagnostic detection of Wuhan coronavirus 2019 by real-time RT-PCR Available at:https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf
17. RealTime SARS-CoV-2. Available at: https://www.euroimmun.com/products/molecular-genetic-diagnostics/pd/molecular-infection-diagnostics/sars-cov-2/2606/8/104696/
18. TaqMan 2019-nCoV Assay Kit v1 Available at: https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/A47532#/A47532

19. SARS-CoV-2 Fluorescent PCR. Available at: https://www.fda.gov/media/137026/download, SARS-CoV-2 Fluorescent PCR Kit, Maccura
20. TaqPath™ COVID-19 Combo Kit, Multiplex real-time RT-PCR test intended for the qualitative detection of nucleic acid from SARS CoV 2. Available at: thermofisher.com
21. SARS-CoV-2/Influenza Multiplex. Available at: www.dna-technology.ru/SARS-CoV2
22. Genrui SARS-CoV-2 Detection Kit. Available at: http://www.genrui-bio.com/products-detail.php?ProId=74
23. WHO/Europe & ECDC Methods for the detection and identification of SARS-CoV-2 variants March. 2021; Available at: https://www.euro.who.int/en/health-topics/health-emergencies/coronavirus-covid-19/publications-and-technical-guidance/2021/methods-for-the-detection-and-identification-of-sars-cov-2-variants,-march-2021
24. SARS-CoV-2 Variant Plus RT-qPCR. Available at: https://www.bioeksen.com.tr/en/biospeedy--sars cov2-variant-plus
25. VirSNiP SARS-CoV-2 Spike N501Y Available at: https://www.tib-molbiol.de/covid-19#nav-644
26. WHO. Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19), Interim guidance. 2020, Available at https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-(covid-19)
27. World Health Organization. Diagnostic testing for SARS-CoV-2: interim guidance. 2020. Available at: https://apps.who.int/iris/handle/10665/334254. License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
28. Guidance for surveillance of SARS-CoV-2 variants Available at: https://www.who.int/publications/i/item/WHO_2019-nCoV_surveillance_variants