



MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA

ORDIN mun. Chișinău

„16” februarie 2022

nr. 112

Cu privire la implementarea metodologiei de secvențiere și monitorizarea circulației virusului SARS-CoV-2 în Republica Moldova

În scopul prevenirii izbucnirilor cauzate de virusul SARS-CoV-2 cu mutații genetice, prin monitorizarea virusului precum și pentru ajustarea măsurilor de gestionare a răspunsului național la pandemia de COVID-19 în baza evaluării particularităților epidemiologice de evoluție a procesului epidemic, dinamicii de răspândire, în conformitate cu prevederile Legii privind supravegherea de stat a sănătății publice nr. 10/2009 și în temeiul Regulamentului privind organizarea și funcționarea Ministerului Sănătății, aprobat prin Hotărârea Guvernului nr. 148/2021,

ORDON:

1. A nominaliza laboratorul virusologic din cadrul Agenției Naționale pentru Sănătate Publică (ANSP) ca laborator responsabil de efectuarea investigațiilor prin metoda de secvențiere pentru monitorizarea genotipurilor virusului SARS-CoV-2.
2. A aproba metodologia de secvențiere și monitorizarea circulației virusului SARS-CoV-2, conform Anexei.
3. Agenția Națională pentru Sănătate Publică (DI Nicolae Jelamschi) va asigura:
 - 1) analiza datelor clinico-epidemiologice furnizate de către Instituțiile Medico - Sanitare Publice (IMSP) și Centrele de Sănătate Publică teritoriale (CSP) pentru selectarea izolatelor pentru secvențiere în scopul monitorizării circulației virusului SARS-CoV-2;
 - 2) efectuarea investigațiilor de secvențiere a probelor biologice care se încadrează în criteriile clinico-epidemiologice;
 - 3) raportarea rezultatelor în adresa Ministerului Sănătății;
 - 4) partajarea datelor în rețele globale de secvențiere GISAID;
 - 5) stocarea datelor de secvențiere și copie de rezervă a documentelor și fișierelor, conform cerințelor legale;
 - 6) acordarea asistenței metodice și practice IMSP în colectarea probelor biologice și transportarea acestora către laboratoarele teritoriale;

- 7) elaborarea măsurilor de control și răspuns în baza rezultatelor obținute în secvențiere;
- 8) pregătirea, transmiterea probelor biologice pentru confirmare către laboratoarele de referință ale OMS, în scopul asigurării calității investigațiilor efectuate prin secvențiere, conform cerințelor în vigoare;
- 9) notificarea Punctului Focal al BRE OMS despre transportarea probelor și rezultatelor obținute conform cerințelor Regulamentului Sanitar Internațional și raportarea rezultatelor în rețele TESSy și alte platforme la care Republica Moldova este parte.

4. Se abrogă ordinul MSMPS nr.14 din 19.01.2021 "Cu privire la monitorizarea circulației tulpinilor de SARS-CoV-2 prin metode de biologie moleculară și secvențiere".

5. Controlul executării prezentului ordin se atribuie dnei Svetlana Nicolaescu, secretar de stat.

Ministru



Ala NEMERENCO

Metodologia de secvențiere și monitorizare a circulației virusului SARS-CoV-2 în Republica Moldova

I. Fundamentare

Secvențierea genomului (*Whole genome sequencing*) virusului SARS-CoV-2 oferă o alternativă de monitorizare în timp real a dinamicii transmiterii virusului, prin identificarea unor secvențe care se unesc împreună în clustere și corelarea lor cu datele clinice și epidemiologice pentru evaluarea impactului intervențiilor de sănătate publică cu rol în îmbunătățirea stării de sănătate și strategiilor de combatere a COVID-19.

Secvențierea tulpinilor de SARS-Cov-2 din Republica Moldova va permite stabilirea originii virusului, a surselor de proveniență, dinamicii transmiterii intracomunitare, monitorizarea patogenicității tulpinilor circulante în relație cu exprimarea fenotipică a infecției la pacienții cu COVID-19 precum și a potențialului de adaptare a virusului SARS-CoV-2 la organismele umane.

II. Scop:

Detectarea noilor variante de tulpini ale SARS-CoV-2 care determină îngrijorare (VOC).

III. Obiectivele secvențierii SARS-CoV-2:

- Monitorizarea dinamicii transmiterii și circulației virusului în zone geografice, teritorii, în timp real;
- Investigarea relației dintre genotipuri ale SARS-CoV-2 și date epidemiologice, cum ar fi transmisibilitatea și severitatea bolii sau grupurile de risc pentru a elabora măsuri de sănătate publică;
- Evaluarea legăturii dintre tulpinile virale, izbucnirilor în diferite tipuri de facilități și grupuri de populație (de exemplu, în instituții medico-sanitare);
- Evaluarea și confirmarea cazurilor repetate de COVID-19;
- Evaluarea impactului mutațiilor asupra performanței metodelor sau terapiilor de diagnostic și performanței medicamentelor antivirale (medicamentele candidate care vizează proteine virale similare cu cele ale SARS-CoV-2 au fost identificate și sunt în prezent în curs de studii preclinice și clinice);
- Evaluarea incidenței potențiale a infecțiilor cu virusuri derivate din vaccin și a incidenței COVID-19 cauzate de virusul SARS- CoV-2 în rândul persoanelor vaccinate și în populație cu un nivel înalt de acoperire vaccinală (70%).

IV. Selectarea probelor de secvențiere

Selectarea probelor pentru secvențiere va depinde de situația epidemiologică, ținta aleasă și resursele disponibile. Supravegherea genomică prevede metodologii complementare de prelevare: metoda de eșantionare reprezentativă și metoda de selectare țintită.

1. Eșantionare reprezentativă permite detectarea și monitorizarea noilor VOC, prelevate colectate în baza sistemelor de supraveghere existente. Cu această metodă de detectare a noilor variante, ECDC¹ recomandă secvențierea a 1% sau 2,5% din numărul total de cazuri pozitive pe o perioadă determinată de timp.

Tabelul 1. Mărimea eșantionului pentru a estima intervalul de încredere de 95% pentru proporția unei anumite variante circulante atunci când proporția acesteia atinge 1%, 2,5% sau 5%

Numărul cazurilor pozitive de SARS-CoV-2	1%	2.5%	5%
> 100 000	1 522	600	292
50 001–100 000	1 500	597	292
25 001–50 000	1 478	593	291
10 001–25 000	1 435	586	289
5 001–10 000	1 321	567	284
2 501–5 000	1 167	536	276
1 001–2 500	947	484	262
501–1 000	604	375	227
< 500	377	273	185

Pentru monitorizarea variantelor, se recomandă secvențierea unui număr adecvat de probe pentru a determina diferențele în proporția relativă a variantelor circulante. Tabelul 1 oferă o reprezentare clară a numărului de probe care ar trebui secvențiate, pentru a putea estima proporția unei anumite variante circulante atunci când aceasta ar ajunge la 1%, 2,5% sau 5%.

În cadrul supravegherii ca exemplu sentinelă, este necesar să se colecteze probe reprezentative din diferite teritorii administrative și perioade de timp, precum și de la pacienți cu date demografice diferite și severitate diferită a bolii, pentru a monitoriza mai eficient evoluția virusului și modificările genomului.

2. Eșantionare țintită, criteriile epidemiologice, clinice și de laborator recomandate pentru selecția țintită a cazurilor pentru secvențiere:

Această eșantionare este potrivită pentru următoarele situații:

- Creșterea sau modificarea neașteptată a transmisibilității și/sau virulenței tulpinei circulante de SARS-CoV-2;
- Înregistrarea unei izbucniri în grupuri de populație cu risc sporit, inclusiv în rândul personalului medical sau în instituții de asistență socială. În cercetarea izbucnirilor/epidemiilor atunci când secvențierea poate contribui

¹ ECDC Sequencing of SARS-CoV-2: first update, 18 January 2021 <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/sequencing-sars-cov-2>

- la clarificarea transmisibilității, descoperirea de noi variante genetice și permite evaluarea asocierii tulpinilor de virus cu izbucniri;
- Stabilirea unui rezultat pozitiv SARS-CoV-2 la persoane revenite din țările în care sunt depistate variante noi ale virusului SARS-CoV-2 cu mutații genetice;
 - Detectarea tulpinilor de SARS-CoV-2 necunoscute sau tulpini divergente;
 - Cazuri simptomatice cu statut de vaccinat complet contra COVID-19, la care au trecut minimum 10 zile de la încheierea vaccinării complete, dar ulterior s-a infectat cu SARS-CoV-2;
 - În grupuri de risc (ex. pacienți imunocompromiși, mai ales dacă primesc terapie cu anticorpi anti-SARS-CoV-2);
 - Debut agresiv și fulminant al bolii COVID-19, cu afectare pulmonară primară pronunțată și detresă respiratorie exprimată.

Eșantionarea țintită având o abordare bazată pe evenimente/riscuri, poate reduce necesitatea și costul secvențierii. Atunci când se raportează tulpini de interes din zone geografice specifice, accentul ar trebui să fie pus pe cazurile cu o legătură epidemiologică cu aceste zone.

În țara noastră metoda de eşantionare țintită va fi aplicată de rutină, în timp ce metoda de eşantionare reprezentativă se va aplica în condițiile menționate mai sus.

După selectarea cazurilor confirmate cu COVID-19 **în baza criteriilor epidemiologice, clinice și de laborator**, laboratoarele responsabile de investigarea prin tehnici de biologie moleculară se recomandă să fie expediate pentru secvențiere doar probele biologice **cu Cycle threshold (Ct) sub 22,00 – 25,00**, în dependență de setul de amplificare (anexa nr. 1).

V. Cerințe

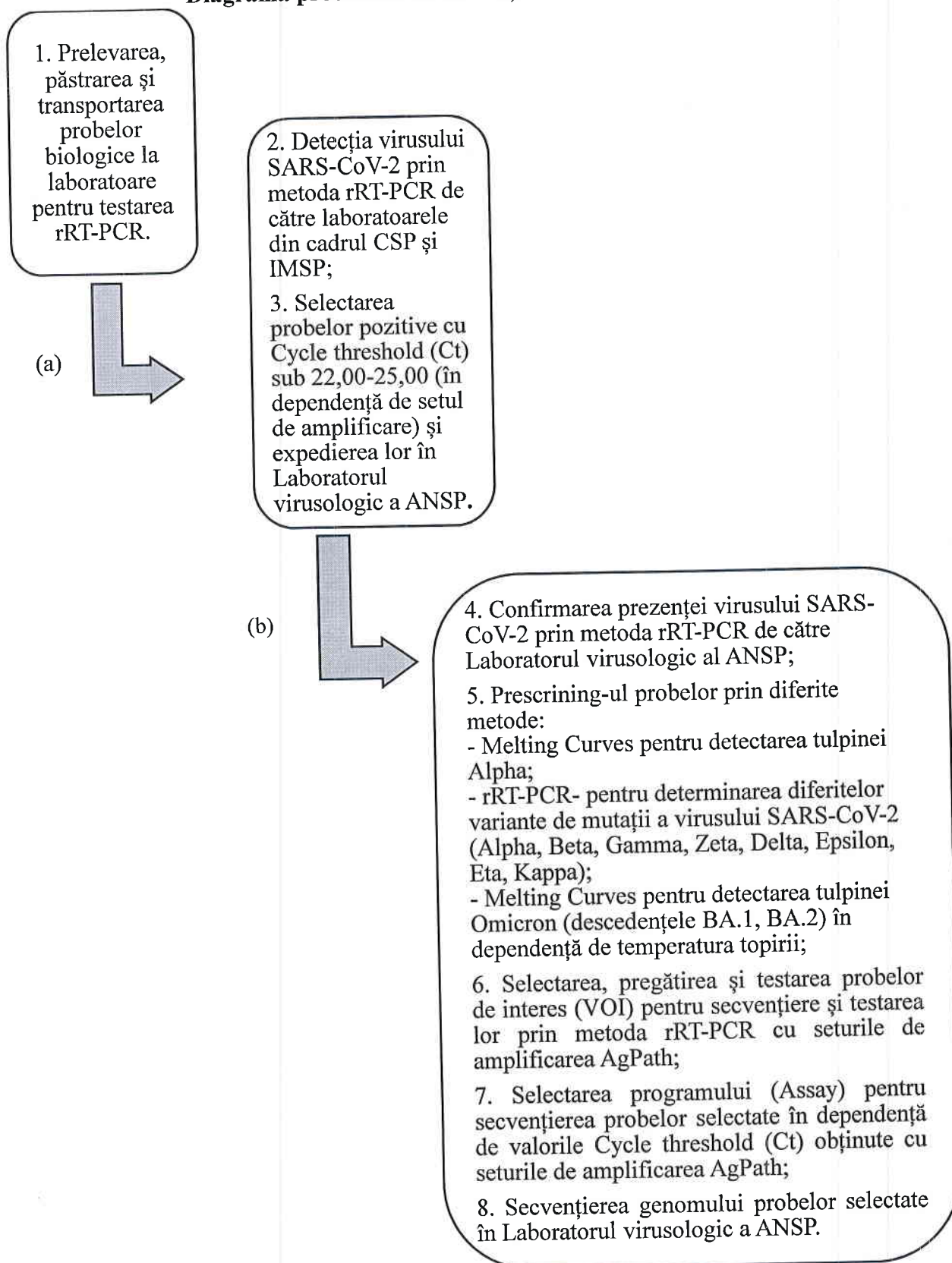
Se interzice înghețarea și dezghețarea repetată a probelor biologice.

Probele destinate expedierii în volum suficient (2 criotuburi pentru fiecare probă, în volum a câte 600-800 mkl) vor fi însoțite de copia buletinului de însoțire (aprobat prin Ordinul MS nr. 761 din 10.08.2021) și tabelul cu toate datele completate, conform anexei nr. 2 la Metodologia de secvențiere și monitorizarea circulației virusului SARS-CoV-2 în Republica Moldova.

Expedierea probelor în Laboratorul virusologic a ANSP (mun. Chișinău, str. A. Cosmecu 3) va fi efectuată în fiecare zi de marți a săptămânii între orele 8:00 - 12:00.

la Metodologia de secvențiere și monitorizarea
circulației virusului SARS-CoV-2 în Republica Moldova

Diagrama procesului de secvențiere a virusului SARS-CoV-2



Legendă:

(a): probe biologice recoltate de la persoane care îndeplinesc criteriile clinico-epidemiologice pentru efectuarea RT-PCR;

(b): probele biologice pozitive la RT-PCR standard vor fi transportate săptămânal la laboratorul care efectuează secvențierea întregului genom SARS-CoV-2. Laboratorul virusologic ANSP va efectua: confirmarea prezenței virusului, prescrining-ul probelor prin RT-PCR specific de variantă și ulterior secvențierea genomului probelor selectate.

