

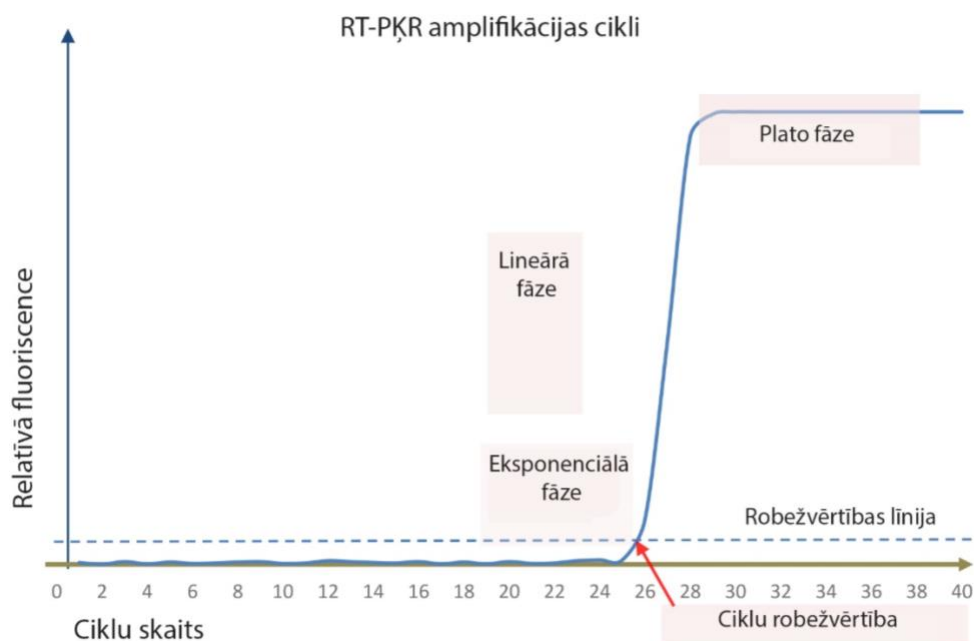
SARS-CoV-2 VĪRUSA RNS NOTEIKŠANAS AR RT-PĶR METODI INTERPRETĀCIJA

Secinājumi izdarīti, ņemot vērā:

- 1) *Lancet Microbe* publicēto pētījumu apkopojumu: *Cevik et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis, Lancet Microbe 2020*
- 2) EGL validētās un izstrādātās metodes - LOD ir 0.2 cp/μL jeb 1 cp/reakciju. Šādi paraugi tiek detektēti pie Ct 39.

Šobrīd Latvijā pielietotā metode SARS-CoV-2 vīrusa noteikšanai ir polimerāzes ķēdes reakcija (PĶR) ar kuru nosaka vīrusa RNS. Metodes pamatā ir izdalīto vīrusa RNS pakļaut atkārtotiem termiskiem cikliem, katrā to dubultojo. Saniedzot mērķa daudzumu, rezultāts tiek interpretēts, kā pozitīvs. Atbildē atspoguļotais *Ct – cycle threshold* jeb amplifikāciju ciklu sliekšnis, raksturo, cik cikli veikti, lai saniegtu pozitīvu rezultātu. Jo mazāks ciklu skaits, jo vairāk SARS-CoV-2 RNS paraugā; jo lielāks ciklu skaits, jo mazāk RNS bijis paraugā.

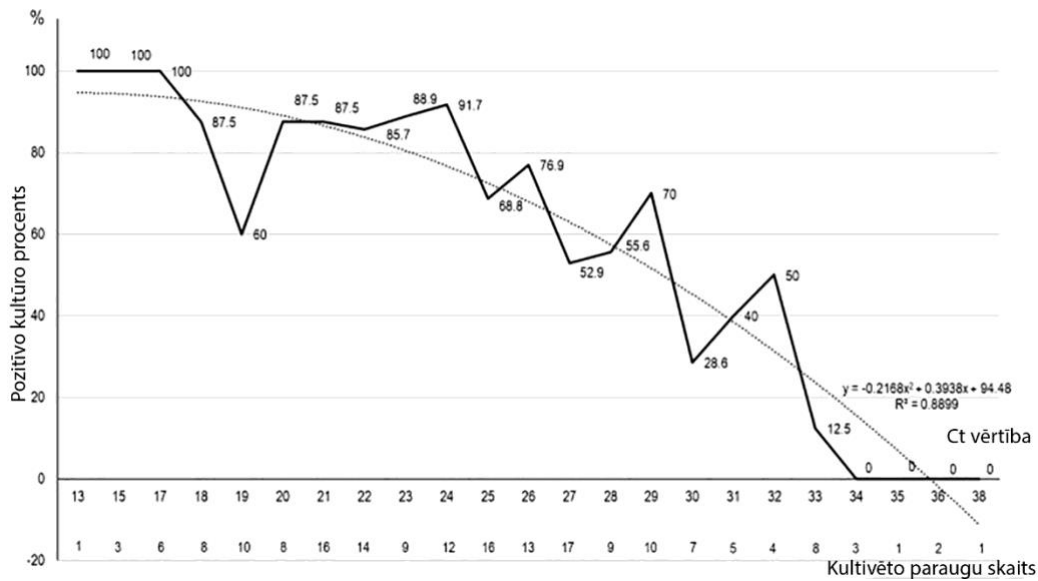
NB! Jāatzīmē, ka tas, ka paraugā ir atrasta SARS-CoV-2 RNS, nenozīmē, ka pacients ir infekciozs.



1.attēls Amplifikācijas ciklu sliekšnis.

Attēls no: *Understanding cycle threshold (Ct) in SARS-CoV-2 RT-PCR: a guide for health protection teams. Ref: PHE publications gateway number: GW-1651, <https://www.gov.uk/government/publications/cycle-threshold-ct-in-sars-cov-2-rt-pcr>*

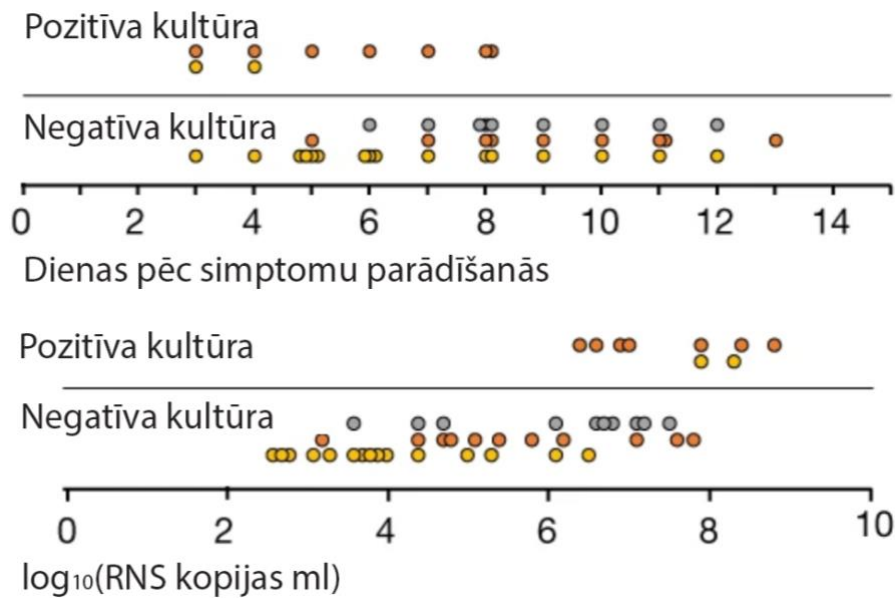
La Scola B., et.al. publicētajā pētījumā “*Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards*” novērots, ka lai gan PĶR, nosakot vīrusa RNS paraugā, ir pozitīva, pie Ct 34 un vairāk, SARS-CoV-2 vīrusu nav iespējams kultivēt, tātad pacients nav infekciozs apkārtējiem; šāda situācija novērota sākot ar 9.dienu kopš simptomu parādīšanās.



2. attēls. Pozitīvo vīrusa kultūru procentuālais īpatsvars kultivējot SARS-CoV-2 PQR pozitīvās nazofaringeālās iztriepes, kas iegūtas no Covid-19 pacientiem.

Attēls no: <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03913-9>

Arī Wölfel R, et.al. rakstā “Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019” konstatē, ka sākot ar 9.dienu kopš simptomu parādīšanās, vairs nav iespējam kultivēt SARS-CoV-2 vīrusu.



3. attēls. Vīrusa SARS-CoV-2 kultivēšana dažādos paraugos.

Attēls no: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2196-x#Fig1>

Ir pētījumi, kur novērotais Ct un infekciozitāte atšķiras - piem., Bullard et al. (*Predicting Infectious Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 From Diagnostic Samples. CID, 2020*) novēroja, ka jau pie Ct > 24 visas vīrusu kultūras bija negatīvas. Tai pat laikā dienu skaits kopš simptomu

parādīšanās un negatīvas vīrusu kultūras sakrīt, respektīvi, >8 dienas. Pozitīvas kultūras iespējamība samazinājas par 32% ar katru Ct.

SECINĀJUMI:

1. Sākot ar 9. slimības dienu vīruss nav kultivējams
2. Ņemot vērā pētījumu par nepieciešamo vīrusa daudzumu kultivācijai (Attēls 2) un Cevik et al., ir nepieciešamas 1000000 cp/mL jeb 1000 cp/ l. Ja EGL metode nosaka 1 kopiju 39. ciklā, tad teorētiski 1000 cp/ l tiek detektēts 28-29. ciklā. Bullard et al pētījuma rezultāti liecina, ka vīruss nav kultivējams, ja Ct>24.
3. Ņemot vērā augstāk minētos rezultātus un EGL, Ct interpretācija varētu būt sekojoša (pacientiem līdz 9. simptomu dienai):

Ct	Interpretācija
<20	Ļoti infekciozs pacients, vīrusa koncentrācija organismā augsta
21-25	Vidēji infekciozs pacients
25-30	Zema iespēja inficēt kontaktpersonas
>30	Pacients, visticamāk, nav infekciozs

SVARĪGI!

- **Ct vērtības jāinterpretē TIKAI kopā ar klīniskajiem datiem.** Ņemot vērā pašreizējo vīrusa izplatību sabiedrībā, testējot pacientu inkubācijas perioda pirmajās dienās, var tikt iegūta augsta Ct (zemi infekciozs) vērtība, kas pēc dažām dienām var būt mainījusies.
- **Ct vērtību interpretāciju attiecināma uz paraugiem, kuri iegūti veicot nazofaringeālo iztriepi. To nedrīkstētu attiecināt uz siekalu testiem,** jo tajos var notikt ātrāka SARS-CoV-2 RNS degradācija, tādējādi ietekmējot ciklu skaitu.
- Lai identificētu pacientus, kuri vairs nav epidemioloģiski bīstami, **papildus var noteikt IgG vai pilnu antivielu profilu.** Šie antivielu testi jāveic akreditētā laboratorijā ar pārbaudītām seroloģiskajām testa sistēmām. Nedrīkst lietot ātros antivielu eksprestestus.

REKOMENDĀCIJAS PAR COVID-19 PACIENTU IZOLĀCIJAS PĀRTRAUKŠANU

Rekomendācijas izveidotas, ņemot vērā augstāk minēto informāciju, ECDC (Eiropas slimību un profilakses centrs) un SPKC (Slimību profilakses un kontroles centrs) ieteikumus. Rekomendācijas var mainīties, ja tiek iegūti jauni zinātniskie dati.

NB! Svarīgi sekot aktuālajām ECDC un SPKC rekomendācijām.

- *European Centre for Disease Prevention and Control. Guidance for discharge and ending isolation of people with COVID-19, 16 October 2020. Stockholm: ECDC; 2020.*
- https://www.spkc.gov.lv/lv/kontroles-testesana/arsta-lemuma-pienemsanas-algoritms-covid-gadijuma_13112020.pdf

Lai lemtu par izolācijas pārtraukšanu Covid-19 pacientiem jāņem vērā:

- laiks kopš simptomu parādīšanās,
- periods kopš simptomi vairs netiek novēroti (48-72h normāla ķermeņa t; nav nepieciešamības pēc skābekļa pievades),
- slimības gaita/smagums,
- imūnsupresijas stāvoklis,
- SARS-CoV-2 RNS Ct un antivielu statuss.

Vairumā gadījumu simptomātiska Covid-19 gadījumā izolācija nepieciešama **14 dienas kopš simptomu parādīšanās**.

Ja pacients **stacionēts intensīvās terapijas nodaļā - vismaz 21 dienu**.

Ja pacients ir **imūnsupresēts** (p., transplantācija) tad **izolācijas režīmu nepieciešams turpināt, visticamāk, visu hospitalizācijas laiku**.

Pacientus, kuri pārslimojuši Covid-19 (pozitīva anamnēze un PQR) iepriekšējo trīs mēnešu laikā un ir atveseļojušies un kuriem nav simptomu (p., klepus, elpas trūkums), NAV nepieciešams izolēt un/vai atkārtoti testēt.

Rekomendācijas izstrādāja:

Mikus Gavars, Didzis Gavars (E.Gulbja laboratorija); Uga Dumpis, Aija Vilde (P.Stradiņa KUS)

Materiāls tapis valsts pētījuma programmas VPP-COVID-2020/1-0008 "Multidisciplināra pieeja COVID19 un citu nākotnes epidēmiju monitorēšanai, kontrolei un ierobežošanai Latvijā," projekta ietvaros.

01/12/2020