

PREDAVANJE U PODRUŽNICI

Podružnica	Podružnica Slavonije i Baranje
Naslov predavanja	Dijagnostika SARS-CoV-2 - naša iskustva u PCR dijagnostici
Predavač (ime, prezime)	Magdalena Vincetić, mag.mol.biologije
Ustanova, grad	Odjel za medicinsku biokemiju, OŽB Vinkovci
Datum, vrijeme i mjesto održavanja	25. listopada 2021. u 17.30 sati; kongresna dvorana Hotela Villa Lenije, Ul. Hansa Dietricha Genschera 3, Vinkovci

Sažetak održanog predavanja (max. 250 riječi):

Molekularna dijagnostika je trenutno „zlatni standard“ za testiranje na SARS-CoV-2. Najčešće korištena metoda je lančana reakcija polimerazom u stvarnom vremenu nakon reverzne transkripcije (rRT-PCR). Etape u dijagnostici uključuju: prikupljanje brisa nazofarinks, zaprimanje/pohrana uzorka (0-72h; 2-8°C), numeriranje i slaganje epruveta, punjenje pločica/pipetiranje uzorka, izolacija i amplifikacija nukleinske kiseline te očitavanje rezultata. Za izolaciju virusne RNA koriste se automatizirani izolatori (KingFisher Flex ili Miracle-AutoXT). Korak izolacije je nužni korak koji prethodi PCR amplifikaciji i u njemu se pročišćena RNA izolira iz deaktiviranog virusa. Nakon toga, izolirana virusna RNA se prevodi u copy DNA (cDNA) reverznom transkripcijom i amplificira PCR metodom, a to sve se odvija u jednom koraku u PCR uređaju („One-step“ reakcija; uređaj QuantStudio 5). Ponavlajuća reakcija amplifikacije specifičnog segmenta RNA odvija se s ciljem stvaranja dovoljno kopija kako bi se fluorescentni signal mogao detektirati. Pozitivni SARS-CoV-2 pacijenti prelaze graničnu liniju („threshold“) unutar 40 ciklusa, prećeno u stvarnom vremenu. Pomoću komercijalno dostupnih testova detektiramo 2-3 ciljne sekvene SARS-CoV-2 virusa, ORF1ab, N gen i/ili E gen, koje imaju dokazano nisku varijabilnost. Krajnji produkti ovakve analize su amplifikacijske krivulje, a za dobivanje kraljnjih rezultata potrebno je nekoliko sati i cijela metoda nije namijenjena praćenju razvoja imuniteta kod inficiranih osoba. Od postojanja molekularnog laboratorija unutar Opće županijske bolnice Vinkovci, veljača 2021., do 23. listopada 2021. ukupno je analizirano ~ 23330 uzoraka, a najveći porasti broja zaraženih uočeni su u travnju te u listopadu.