

# **”Dezvoltarea în regim de urgență a unor instrumente moleculare pentru evaluarea emergenței și re-emergenței COVID-19”**

Daniela Luminița Ichim, Carmen Lăcătușu

## **Introducere**

În calitatea sa de agenție responsabilă cu menținerea în cea mai bună stare a sănătății la nivel global, Organizația Mondială a Sănătății recunoștea public în 11 martie 2020, ca urmare a evaluării non-stop a nivelului alarmant de răspândire și severitate a noului coronavirus, că situația mondială justifică stadializarea de pandemie.

Întreaga lume științifică s-a mobilizat deja pentru a obține informații necesare pentru cunoașterea și contracararea pericolului reprezentat de acest nou membru al Familiei *Coronaviridae* denumit SARS CoV-2.

Diseminarea interumană a acestui virus se realizează, în principal, prin aerosoli produși prin tuse sau strănut și contact direct cu indivizi infectați, existând însă și dovezi în favoarea transmiterii indirecte, prin contact cu obiecte și suprafețe contaminate cu produse biologice (inclusiv materii fecale) care conțin particule infecțioase.

Însă, informațiile privind modul de transmitere a virusului la acea dată erau inconsistente, de aici și necesitatea continuării studiilor privind evaluarea riscului biologic.

De exemplu, chiar până în luna martie 2020 ( inclusiv) la nivel internațional (în țări precum Italia, Spania, Olanda, Ungaria, Australia) au apărut public rezultatele unor studii ce aduc în discuție riscul de contaminare al mediului prin excreția fecală a virusului, subliniind importanța epidemiologică a monitorizării virusului în mediul inconjurător.

În țara noastră atunci nu existau cercetări care să se concentreze pe detecția SARS CoV-2 în ape uzate.

În perioada imediat următoare, un grup de cercetatori afiliați unor instituții de renume la nivel național, și nu numai, au condus un studiu de screening al apelor reziduale care să servească sistemul de sănătate publică pentru documentarea unor proceduri naționale de monitorizare a circulației virusului SARS CoV-2 în mediu, profitând de ocazia unică de a urmări comportamentul virusului, pandemia fiind în evoluție.

Așa a luat naștere Proiectul **”Dezvoltarea în regim de urgență a unor instrumente moleculare pentru evaluarea emergenței și re-emergenței COVID-19”** (Acronim AcvaCov) condus de Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Medico-Militară „Cantacuzino”.

Spitalul Militar Clinic de Urgență Iași a fost partener 2 în consorțiul AcvaCov, echipa de cercetare fiind formată din Șef lucrări dr. biol. princ. Daniela Luminița Ichim – responsabil de proiect și Ing. specialist în Protecția Mediului - Carmen Lacatușu, membru.

**Scopul proiectului :**

- crearea de instrumente moleculare pentru îmbunătățirea controlului răspândirii SARS-Cov-2

**Obiectivele specifice ale proiectului :**

- evaluarea unui model microbiologic și epidemiologic de screening al apelor reziduale prin dezvoltarea metodologiei de evaluare a prezenței SARS-Cov-2 în mediu acvatic care să servească sistemului de sănătate publică pentru documentarea unor proceduri naționale de monitorizare a circulației SARS-CoV-2 în mediu;
- dezvoltarea unei soluții epidemiologice de îmbunătățire a sistemului de supraveghere și alertă a emergenței și re-emergenței virusului la nivel regional/național.

**Metode**

- eșantioanele de apă uzată au fost colectate din influentul (netratat), efluentul stațiilor de tratare a apei ale unor mari orașe și din sistemul de canalizare asociat unor spitale din Transilvania, Moldova și București ( fig.1).

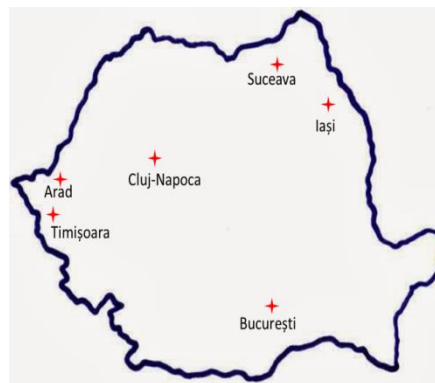


Fig.1. Prelevarea eșantioanelor de apă uzată: mod de lucru, localități

- procesarea probelor de apă în vederea concentrării;
- extracția de ARN viral direct din probele concentrate cu truse comerciale dedicate;
- detecția SARS CoV-2 se adresează ARN viral, bazându-se pe două variante tehnice: reacția de polimerizare în lanț în timp real (RT-PCR) și amplificarea izotermală mediată de buclă (LAMP).

## Rezultate

- prin RT-PCR :
  - *în stațiile de epurare a apei au fost identificate probe pozitive numai în influent;*
  - *în apele reziduale provenite din spitale de boli infecțioase s-au determinat concentrații mari de ARN viral;*
  - *au fost înregistrate concentrații virale crescute în apele reziduale din zonele cu raportare de focare.*
- *optimizarea protocolului de detecție cantitativă a ARN SARS CoV-2 în ape reziduale;*
- *detecția calitativă a ARN SARS CoV-2 în ape reziduale prin RT-LAMP.*

## Concluzii

- *protocolul de concentrare a probelor de apă și de extracție a acizilor nucleici a permis detectarea ARN SARS-CoV-2 prin metodele RT-PCR și LAMP;*
- *probele de influent de la stațiile de tratare a apei au fost pozitive pentru SARS-CoV-2, ceea ce sugerează eficiența procesului de epurare din stațiile analizate;*
- *procoloalele optimizate pot fi utilizate ca instrument de avertizare timpurie cu privire la apariția COVID-19 în perspectiva implementării unui sistem național de supraveghere a infecției;*
- *analiza apelor reziduale identifică circulația silențioasă a virusului și poate fi un sistem de avertizare a posibilității apariției unor focare de Covid-19.*

În laboratoarele din **România** s-a realizat până acum detecția virusului în *probe biologice* obținute direct de la *pacienți*.

În acest studiu noutatea constă și în faptul că **a fost detectat virusul în probe de apă**.

- detecția SARS CoV-2 se adresează ARN viral, bazându-se pe două variante tehnice: reacția de polimerizare în lanț în timp real (RT-PCR) și amplificarea izotermală mediată de buclă (LAMP).

## Rezultate

- prin RT-PCR :
  - *în stațiile de epurare a apei au fost identificate probe pozitive numai în influent;*
  - *în apele reziduale provenite din spitale de boli infecțioase s-au determinat concentrații mari de ARN viral;*
  - *au fost înregistrate concentrații virale crescute în apele reziduale din zonele cu raportare de focare.*
- *optimizarea protocolului de detecție cantitativă a ARN SARS CoV-2 în ape reziduale;*
- *detecția calitativă a ARN SARS CoV-2 în ape reziduale prin RT-LAMP.*

## Concluzii

- *protocolul de concentrare a probelor de apă și de extracție a acizilor nucleici a permis detectarea ARN SARS-CoV-2 prin metodele RT-PCR și LAMP;*
- *probele de influent de la stațiile de tratare a apei au fost pozitive pentru SARS-CoV-2, ceea ce sugerează eficiența procesului de epurare din stațiile analizate;*
- *procedurile optimizate pot fi utilizate ca instrument de avertizare timpurie cu privire la apariția COVID-19 în perspectiva implementării unui sistem național de supraveghere a infecției;*
- *analiza apelor reziduale identifică circulația silențioasă a virusului și poate fi un sistem de avertizare a posibilității apariției unor focare de Covid-19.*

În laboratoarele din **România** s-a realizat până acum detecția virusului în *probe biologice* obținute direct de la *pacienți*.

În acest studiu noutatea constă și în faptul că **a fost detectat virusul în probe de apă**.