



Всемирная организация
здравоохранения

Европейский регион

Методы обнаружения и описания вариантов SARS-CoV-2 – второе обновление

21 июня 2022 г.

Обновленная информация

- Включены сведения о тест-системах для анализа на варианты «омикрон» BA.4 и BA.5.
- Глава об экспресс-тестах для выявления антигенов (ЭТВА) обновлена и дополнена доступной информацией об их эффективности при выявлении вариантов «омикрон».
- Глава о реакциях нейтрализации дополнена информацией о выделении вариантов SARS-CoV-2 BA.4/5.

Резюме

За последний год появилось несколько вариантов, вызывающих обеспокоенность (ВВО), и мониторинг их циркуляции во всех странах является ключевой задачей. Полногеномное секвенирование (ПГС) или как минимум полное или частичное секвенирование гена S – это наилучший метод описания конкретного варианта. Для раннего выявления и расчёта распространённости вариантов, вызывающих обеспокоенность (ВВО), вариантов, вызывающих интерес (ВВИ), и вариантов, требующих дальнейшего мониторинга (ВТДМ), разработаны и другие методы, в т.ч. тест-системы для диагностического скрининга на основе методов амплификации нуклеиновых кислот (МАНК). Многие из этих методов позволяют точно идентифицировать указанные варианты, а остальные требуют подтверждения как минимум некоторого подмножества образцов путём полного или частичного секвенирования гена S.

Генетический мониторинг следует включить в общие стратегии надзора за вирусами, вызывающими респираторные заболевания. К конкретным задачам выявления и идентификации вариантов относится оценка циркуляции различных вариантов SARS-CoV-2 среди местного населения путем отбора репрезентативных выборок для секвенирования, определение генетических характеристик для мониторинга эволюции вируса и формирование доказательной базы для принятия решений о составе вакцин или анализа вспышек. При использовании тест-систем на основе МАНК необходимо провести подтверждающее секвенирование как минимум некоторого подмножества вирусов, чтобы эти результаты анализа можно было использовать как показатели циркуляции вариантов вируса, в частности ВВО, среди населения. Перед внедрением нового метода тестирования или новой тест-системы необходимо провести валидацию и проверку, чтобы подтвердить, что лабораторная тест-система способна надёжно выявлять циркулирующие вирусы. Результаты определения вариантов необходимо передавать в Европейскую систему эпиднадзора (TESSy), а консенсусные последовательности SARS-CoV-2 – в Глобальную инициативу по обмену данными о гриппе (GISAID) или иную общедоступную базу данных. Соответствующие исходные данные секвенирования, если они доступны, следует передавать в Европейский архив нуклеотидов (ENA), а необработанные данные, при наличии, следует своевременно (в идеале - еженедельно) передавать в Европейский архив нуклеотидов (ENA).

Настоящий документ был разработан техническими экспертами ECDC и Европейского регионального бюро ВОЗ, а его предыдущие версии прошли рецензирование экспертами специализированных лабораторий ВОЗ и Рабочей группы по характеристике SARS-CoV-2.

Европейский центр профилактики и контроля заболеваний/Европейское региональное бюро ВОЗ. Методы обнаружения и идентификации вариантов SARS-CoV-2: второе обновление, июль 2022. ECDC и Европейское региональное бюро ВОЗ: Стокгольм и Копенгаген; 2022.

Европейский центр профилактики и контроля заболеваний и Всемирная организация здравоохранения, 2022. Некоторые права защищены. Данная работа доступна на условиях лицензии Creative Commons Attribution-3.0 IGO (CC BY-3.0 IGO; Creative Commons Attribution 3.0 IGO – CC BY 3.0 IGO).

Номер документа: WHO/EURO:2022-2148-41903-66014

Основные тезисы

- В последние месяцы и годы появилось несколько новых ВВО SARS-CoV-2. Мониторинг циркуляции этих ВВО во всех странах является важнейшей задачей для предотвращения и контроля их распространения.
- Генетический мониторинг следует включить в общие стратегии надзора за вирусами, вызывающими респираторные заболевания.
- Странам рекомендовано сохранять бдительность и отслеживать сигналы о появлении или включении в список новых линий/вариантов. Странам следует подготовиться к увеличению нагрузки по тестированию и секвенированию при получении сигнала о скором появлении нового ВВО, ВВИ или ВТДМ.
- Для подтверждения заражения конкретным вариантом и для его описания следует использовать полногеномное секвенирование SARS-CoV-2, или как минимум полное или частичное секвенирование гена S.
- Для раннего выявления и расчёта распространённости ВВО (или при ограниченности возможностей по секвенированию) следует использовать альтернативные методы, например, диагностические скрининговые тест-системы на основе МАНК.
- При использовании методик на основе МАНК для описания как минимум некоторого подмножества вариантов следует использовать секвенирование.
- Ключевое значение имеет выбор образцов и методов, который зависит от целей (например, оценка циркуляции различных вариантов SARS-CoV-2 с использованием выборок, репрезентативных для местного населения, раннее обнаружение новых вариантов, определение генетических и антигенных характеристик для мониторинга эволюции вируса и обоснования решений о составе вакцин или анализа вспышек).
- Валидация тест-системы необходима для подтверждения того, что работа лабораторной системы проведения анализов соответствует картине циркуляции вирусов.
- Лабораториям следует сохранять бдительность, чтобы обеспечить выявление снижения чувствительности или неспособности выявлять/идентифицировать циркулирующие варианты с помощью различных тест-систем на основе ПЦР или выявления антигенов.
- Если имеющихся возможностей по секвенированию недостаточно, следует в приоритетном порядке исследовать дозорные образцы, полученные из учреждений первичной и вторичной медико-санитарной помощи, а также проводить секвенирование и описание положительных на SARS-CoV-2 образцов, полученных в особых условиях, так как они могут содержать важную информацию о появлении новых вариантов с возможными изменениями характеристик. К особым условиям могут быть отнесены кластеры случаев заболевания, пациенты с нарушениями иммунной системы или иными сопутствующими заболеваниями, которые приводят к увеличению периода репликации и выделения вируса, случаи с необычной клинической картиной заболевания, сниженной реакцией на терапию, включая противовирусные средства, а также случаи с предположительно зоонозным путем передачи вируса или предположительным изменением эффективности методов диагностики.
- Консенсусные последовательности SARS-CoV-2 следует передавать в GISAID или иные общедоступные базы данных. Следует также предоставлять необработанные последовательности в Европейский архив нуклеотидов (ENA), и, по возможности, направлять через ENA на портал Европейской Комиссии, где размещены данные о COVID-19.
- Клинические образцы SARS-CoV-2 и/или изоляты вируса следует передавать в национальные референс-лаборатории и референс-лаборатории ВОЗ для дальнейшего исследования антигена и исследования устойчивости к противовирусным препаратам и терапии.
- Уведомления об обнаружении новых ВВО или вспышек циркулирующих в настоящее время ВВО следует немедленно направлять через Систему раннего предупреждения и реагирования (EWRS), а сведения о случаях обнаружения вариантов следует еженедельно направлять в TESSy.
- Все лабораторные данные относительно циркуляции ВВО в ЕС/ЕЭЗ необходимо незамедлительно передавать через систему EpiPulse и направлять в Европейское региональное бюро ВОЗ и ECDC.

Введение

За время пандемии COVID-19 появилось несколько ВВО SARS-CoV-2, и мониторинг их циркуляции во всех странах является важнейшей задачей для предотвращения и контроля распространения этих ВВО [1]. Генетический анализ — это единственный способ идентифицировать и охарактеризовать новые варианты и однозначно типировать имеющиеся варианты. Для подтверждения заражения конкретным вариантом требуется секвенирование целого генома SARS-CoV-2 или как минимум всего гена S либо его части. Рекомендации по секвенированию SARS-CoV-2 приведены в [техническом руководстве ECDC по секвенированию SARS-CoV-2](#), документе ВОЗ [Genomic sequencing of SARS-CoV-2: a guide to implementation for maximum impact on public health](#) [Руководство по достижению максимальной эффективности геномного секвенирования SARS-CoV-2 в целях общественного здравоохранения] и документе ВОЗ [SARS-CoV-2 genomic sequencing for public health goals: Interim guidance](#) [Геномное секвенирование SARS-CoV-2 для целей общественного здравоохранения. Временные рекомендации] [2–4]. ECDC опубликовал документ [Guidance on representative and targeted genomic SARS-CoV-2 monitoring](#) [Руководство по репрезентативному и

целенаправленному мониторингу геномной информации SARS-CoV-2], в котором приведены дополнительные сведения о стратегии отбора и секвенирования образцов [5]. Кроме того, ECDC и Европейское региональное бюро ВОЗ опубликовали технические рекомендации по мониторингу антигенных характеристик SARS-CoV-2 [6].

В некоторых случаях задержка при получении результатов ПГС может препятствовать надлежащему реагированию системы общественного здравоохранения и расчёту распространённости различных вариантов в местном сообществе в реальном времени. В некоторых ситуациях секвенирование гена S по Сэнгеру может быть более практичным и своевременным, чем ПГС.

Для раннего выявления и расчёта распространённости ВВО, ВВИ и вариантов, требующих дальнейшего мониторинга (ВТДМ) [1] ценны альтернативные методы, в т.ч. диагностические скрининговые тест-системы на основе МАНК, дающие результаты за несколько часов, с последующей проверкой и/или подтверждением методом секвенирования. Лабораториям следует сохранять бдительность, чтобы обеспечить выявление снижения чувствительности или неспособности зафиксировать циркуляцию новых вариантов из-за несоответствия последовательностей праймеров/зондов

Целевая аудитория

В настоящем документе приведены временные рекомендации для специалистов по микробиологии и вирусологии, руководителей лабораторий, руководителей программ по инфекционным заболеваниям, сотрудников служб здравоохранения и других заинтересованных лиц, занятых первичным, подтверждающим или углубленным тестированием на SARS-CoV-2, включая секвенирование генома, или принимающих решения относительно создания/наращивания возможностей и потенциала по обнаружению и идентификации циркулирующих вариантов SARS-CoV-2.

Методология

Исходный документ был разработан техническими экспертами ECDC и Европейского регионального бюро ВОЗ в сотрудничестве с экспертами Рабочей группы ECDC и Европейского регионального бюро ВОЗ по характеристике SARS-CoV-2 (VCWG). Все члены VCWG заполнили соглашения о конфиденциальности и декларации об отсутствии заинтересованности, составленные Европейским региональным бюро ВОЗ и ECDC. Проверка собранных документов не выявила конфликта интересов.

Ввиду постоянно меняющейся ситуации вокруг вариантов SARS-CoV-2 проведение систематических проверок не представляется возможным. Были проведены целевые поиски по базам данных PubMed, medRxiv и bioRxiv, направленные на выявление рецензированных и опубликованных работ, а также исходных исследований о методах обнаружения и характеристике ВВО SARS-CoV-2, включая поиск методов секвенирования генома, МАНК, систем для экспресс-анализа и реакций нейтрализации. В некоторых случаях, когда это было возможно, были также рассмотрены неопубликованные исследования, представленные в виде презентаций на собраниях VCWG или переданные через платформу Европейского регионального бюро ВОЗ для распространения протоколов, связанных с исследованием COVID-19. Для выбранных публикаций провели оценку качества доказательной базы, основанной на методах и результатах исследования. Формальную оценку публикаций по системе GRADE не проводили ввиду ограниченности времени и ресурсов. Кроме того, данная работа не является систематическим литературным обзором.

Были также проанализированы другие рекомендации ВОЗ и ECDC относительно лабораторных методик и процедур с точки зрения обнаружения и характеристики появляющихся вариантов SARS-CoV-2. В обзор были включены только последние версии рекомендаций ECDC и ВОЗ, касающихся трудностей, связанных с надзором и лабораторными исследованиями SARS-CoV-2 и его вариантов.

В связи с постоянно меняющейся ситуацией вокруг вариантов SARS-CoV-2 количество проверяемых данных было ограничено. Более того, некоторые текущие исследования, касающиеся обнаружения и характеристики новых вариантов, не были включены в обзор, поскольку результаты ещё не были получены. В связи с этим отслеживание новых работ по выявлению и характеристике появляющихся вариантов SARS-CoV-2 остается обязательной задачей для ВОЗ и ECDC.

Область применения и цели

Назначение данного документа – представить доступные методы выявления и характеристики циркулирующих вариантов SARS-CoV-2. В этом документе кратко описаны проблемы оценки качества, а также изложены соображения относительно выбора типа образцов и методов и представления результатов в зависимости от целей исследования. В документе представлены рекомендации, призванные облегчить принятие решений относительно применяемых технологий и целей их использования.

Настоящий документ дополнен ссылками на более актуальную библиографию и информацией об имеющихся тест-системах для выявления и описания новых вариантов SARS-CoV-2 (например, вариантов «омикрон» BA.4 и BA.5).

Секвенирование

Полногеномное секвенирование

ПГС необходимо для идентификации, мониторинга и оценки вариантов вируса, которые могут быть более способны к распространению и сопряжены с более тяжелым течением заболевания либо оказывают отрицательное влияние на меры общественного здравоохранения и социальные меры контроля. При использовании подхода на основе расположенных «встык» ампликонов или метода дробного секвенирования можно исследовать весь геном вируса и сравнить его с другими циркулирующими штаммами [2]. ПГС можно эффективно использовать для выявления ВВО, так как оно представляет собой объективный метод, для которого не требуется информация о наличии определённых мутаций в вирусном геноме.

Эпидемиологический надзор за SARS-CoV-2 по образцам сточных вод можно проводить с помощью ПГС. Хотя оно может быть полезным инструментом для оценки распространенности SARS-CoV-2, извлечение информации на уровне варианта является сложной задачей и требует использования специализированных алгоритмов из области биоинформатики. Результаты следует интерпретировать с осторожностью, особенно в случае вариантов, выявляемых в малой доле случаев (менее 5%) [7, 7a].

ПГС – это относительно ресурсозатратный метод: для получения результатов, в зависимости от алгоритма, может потребоваться от нескольких часов до нескольких дней. Помимо прочего, необходимо учесть вопросы хранения данных и биоинформационной поддержки. Рекомендации по внедрению ПГС приведены в техническом [руководстве ECDC по секвенированию SARS-CoV-2](#) и документах ВОЗ [Genomic sequencing of SARS-CoV-2: a guide to implementation for maximum impact on public health](#) [Руководство по достижению максимальной эффективности геномного секвенирования SARS-CoV-2 в целях общественного здравоохранения] и «[Геномное секвенирование SARS-CoV-2 для целей общественного здравоохранения. Временные рекомендации](#)» [2–4]. Дополнительные рекомендации относительно стратегии отбора и секвенирования образцов для обеспечения репрезентативности и надёжности результатов приведены также в документе ECDC Guidance for representative and targeted genomic SARS-CoV-2 monitoring [Руководство по репрезентативному и целенаправленному мониторингу геномной информации SARS-CoV-2] [5].

Обычно пригодными для качественного полногеномного секвенирования считаются образцы с пороговым значением (Ct) ≤ 25 . Образцы с Ct > 30 могут быть непригодны для получения сведений о полном геноме вируса, но их можно использовать для определения линии/варианта SARS-CoV-2 [8].

Необходимо в приоритетном порядке исследовать дозорные образцы, полученные из учреждений первичной и вторичной медицинской помощи, а также проводить секвенирование и характеристику положительных на SARS-CoV-2 образцов, полученных в особых условиях, так как они могут содержать важную информацию о появлении новых вариантов с возможными изменениями характеристик [9]. К особым условиям могут быть отнесены вспышки заболеваемости, пациенты с нарушениями иммунной системы или иными сопутствующими заболеваниями, которые приводят к увеличению периода репликации и выделения вируса, случаи с необычной клинической картиной заболевания, сниженной реакцией на терапию, включая противовирусные средства, а также случаи с предположительно зоонозным путем передачи вируса или предположительным изменением эффективности методов диагностики [8, 8a].

Иногда некоторые ампликоны конкретных тест-систем могут не позволить выявить определённые циркулирующие ВВО из-за несовпадения праймеров и целевых участков. Это может привести к получению ложноотрицательных результатов при определении остатков шиповидного белка. Так, анализ *in silico* показал, что ампликон 76 протокола ARTIC v4 потенциально не подходит для выявления ВВО «омикрон» из-за несовпадения праймера и целевой последовательности, что может приводить к ложноотрицательным результатам для остатков шиповидного белка 417, 440 и 446. Если этот участок не охвачен, то для идентификации указанного варианта можно использовать другие характерные мутации. Уже выпущена обновленная версия протокола ARTIC – версия 4.1, призванная устранить проблему несовпадения праймеров и целевых участков варианта «омикрон» [10].

Секвенирование по Сэнгеру или методы частичного секвенирования нового поколения на основе ампликонов

Учитывая множество характерных мутаций некоторых ВВО, их можно идентифицировать на основании частичных последовательностей S-гена. Желательно, чтобы такие последовательности включали в себя

рецептор-связывающий домен (RBD), однако для заключения о том, что вирус относится к конкретному варианту, можно использовать любой участок, охватывающий достаточное количество характерных мутаций. Особое внимание следует уделять наличию однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) известных мутаций, приводящих к изменению биологических характеристик вируса. Альтернативными методами идентификации ВВО являются секвенирование по Сэнгеру и метод секвенирования нового поколения (СНП) на основе ампликонов, применяемый к избранным фрагментам вирусного генома. Благодаря этим методам можно провести целевое секвенирование всего гена S или его части. Затруднения при проведении СНП, как и при проведении ПГС, связаны с доступностью оборудования и биоинформационным анализом [11, 12]. Разработаны алгоритмы специфичной ОТ-ПЦР для маркерных фрагментов участка гена S, указывающих на различные ВВО, с последующим секвенированием [13]. Такие алгоритмы (в т.ч. и для варианта «омикрон») опубликованы на платформе ВОЗ [EZCollab](#) и доступны для скачивания национальными лабораториями общественного здравоохранения. Если предпочтительным методом является секвенирование по Сэнгеру, то подлежащий секвенированию участок должен охватывать как минимум весь N-конечный участок и RBD (аминокислоты 1–541, 1623 пары нуклеотидов (п.н.)), чтобы можно было достоверно отличить циркулирующие варианты друг от друга. В секвенируемом участке должны присутствовать характеристические мутации, позволяющие идентифицировать вариант. Желательно провести секвенирование аминокислот 1–800 гена S (2400 п.н.) или всего гена S, чтобы захватить сайт рестрикции S1/S2 и другие значимые участки. Характерные для вариантов аминокислотные замены опубликованы в обновленном списке ВВО, ВВИ и ВТДМ, опубликованном ECDC [здесь](#).

ECDC и ВОЗ могут оказать странам поддержку при проведении ПГС и биоинформационного анализа. За дополнительными сведениями обращайтесь по адресу covid.microbiology@ecdc.europa.eu или euinfluenza@who.int.

Скрининговые тест-системы для диагностики известных ВВО

Тест-системы на основе ОТ-ПЦР и несоответствие целевому гену S

В качестве золотого стандарта для выявления SARS-CoV-2 обычно используются методы амплификации нуклеиновых кислот (МАНК), основанные на ПЦР с обратной транскриптазой (ОТ-ПЦР). В таких тестах на основе ОТ-ПЦР для амплификации может использоваться один или несколько целевых генов.

Для некоторых ВВО SARS-CoV-2 (например, «альфа» [B.1.1.7] и «омикрон» [B.1.1.529]) в мультиплексных анализах методом ОТ-ПЦР характерен отрицательный или существенно более слабый результат для гена S при положительных результатах для других мишеней. Это использовали в качестве индикатора или скринингового метода для выявления данных вариантов. Ослабленный сигнал или полное несоответствие целевому гену S обусловлено делецией нуклеотидов 207–212 (делецией аминокислот 69-70, Δ69-70) соответствующего гена и известно как несоответствие целевому гену S (S-gene target failure, НЦГ S). По случайному совпадению, это явление проявляется в некоторых тест-системах, в которые в качестве целевого включён ген S (например, ThermoFisher TaqPath), но не во всех [3, 14-16]. В частности, вариант «альфа» и большинство представителей варианта «омикрон» дают положительный сигнал при проведении ОТ-ПЦР, когда целевыми являются гены ORF1 и N, но не ген S [17]. Шиповидные белки вариантов BA.4 и BA.5 имеют идентичное строение, схожее со структурой шиповидного белка варианта BA.2, за исключением Δ69-70, L452R, F486V и замены аминокислоты стандартного вируса в Q493. Следовательно, НЦГ S можно использовать для предварительного скрининга в качестве косвенного маркера наличия вариантов BA.4 и BA.5 в условиях распространения доминирующего варианта, не имеющего указанных мутаций (например, BA.2). Однако существуют последовательности вирусов, не относящихся к линии «омикрон», но являющихся носителями мутации Δ69-70 и поэтому дающих положительный результат на НЦГ S [18]. Вышеуказанные факты подчёркивают важность секвенирования для характеристики вариантов SARS-CoV-2.

Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов США (FDA) выпустило список молекулярных тестов, на которые могут повлиять мутации варианта «омикрон» SARS-CoV-2 [19]. Аналогично, Объединённый исследовательский центр (ОИЦ) Европейской Комиссии отслеживает рабочие характеристики тест-систем на основе ОТ-ПЦР и публикует сведения на [информационной панели ОИЦ](#) (JRC Dashboard). Лабораториям настоятельно рекомендовано проверять эффективность используемых протоколов по данным информационной панели, основанным на результатах анализа *in silico*. Следует отметить, что проблема НЦГ S актуальна не только для вариантов «альфа» и «омикрон». Поэтому наличие НЦГ S может как указывать на другие варианты, не относящиеся к ВВО, так и не позволять выявить некоторые другие ВВО (включая сублинию BA.2 «омикрон»). Само по себе НЦГ S не позволяет идентифицировать конкретные варианты. Более того, в образцах с высокими значениями Ct картина НЦГ S может проявляться по случайности, сопровождаясь слабым сигналом и для других целевых участков. Образцы с более низкими Ct (т.е. менее 30) поддаются более надёжной оценке. Пороговое значение можно выбрать исходя из того, используется ли НЦГ S для скрининга с целью выявления отдельных случаев на ранней стадии (с последующим секвенированием всех положительных образцов) или в качестве косвенного критерия в условиях распространённости положительного на НЦГ S ВВО (например, «омикрон»). В первом случае следует добиваться максимальной чувствительности; во втором важнее специфичность, поэтому можно выбрать более консервативное пороговое значение. НЦГ S желательно использовать в качестве индикатора в тех случаях, когда конкретный ВВО уже циркулирует с высокой распространённостью в конкретных условиях и необходимо быстро получить результаты лабораторного анализа, либо при ограниченных возможностях проведения секвенирования [18]. Настоятельно рекомендуется проводить подтверждение делеции нуклеотидов 207–212 (Δ69-70) путём секвенирования, особенно в условиях низкой распространённости. Однако вне зависимости от распространённости, следует исследовать путём секвенирования как минимум некоторое подмножество образцов с НЦГ S (т.е. минимум 10% или другую долю, исходя из имеющихся ресурсов) [18]. Данная мера необходима для повышения степени уверенности в результатах и их достоверности и требует тщательного мониторинга. В условиях циркуляции других вариантов с той же делецией, не относящихся к ВВО, необходимо секвенирование всех случаев НЦГ S.

Для оценки региональной корреляции между исследованными образцами с НЦГ S и конкретным ВВО можно рассмотреть возможность увеличения количества секвенируемых образцов, отбираемых по НЦГ S при скрининге, так как эта корреляция варьируется в зависимости от того, какие варианты циркулируют в данном регионе [20]. Если степень корреляции очень высока, то в качестве приблизительной характеристики встречаемости ВВО с делецией в гене S можно использовать НЦГ S.

Мультиплексная ОТ-ПЦР

При использовании многоканального устройства для ОТ-ПЦР в реальном времени нормальные тесты на E и/или N и/или ORF-1 можно сочетать с анализами на ген S, чтобы скрининг на ВВО можно было включить в обычный алгоритм действий в рамках единого цикла [21].

Важно подчеркнуть, что результатам не следует придавать чрезмерно большое значение; их нужно проверять и постоянно подтверждать методами геномики.

Тест-системы скрининга на ОНП

Определение специфичных для ВВО аминокислотных замен можно проводить с помощью специфических тест-систем на базе ОТ-ПЦР, нацеленных на однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП), присутствующие у некоторых ВВО [21]. При этом потребуются соответствующие положительные контрольные образцы. Этот метод позволяет быстро оценить распространенность среди местного населения вариантов, в которых присутствуют специфические мутации.

Следует отметить, что существуют аминокислотные замены (например, N501Y), присутствующие сразу в нескольких линиях SARS-CoV-2, которые не относятся к циркулирующим в настоящее время ВВО. При этом несколько циркулирующих в настоящее время ВВО имеют общие мутации. Таким образом, как минимум некоторое подмножество образцов необходимо проверять путём секвенирования.

Важно отметить, что имеющиеся тест-системы для выявления ОНП (например, тест-системы на ОНП N501Y) могут не выявлять / не идентифицировать новые варианты, в которых присутствует данный ОНП (например, N501Y), из-за аминокислотных замен в участках, влияющих на связывание праймера/зонда. В частности, для вариантов «омикрон» некоторые коммерчески доступные тест-системы на ОНП для выявления замен T478K, N501Y и P681H неспособны надёжно выявлять эти мутации, несмотря на их наличие в гене S данных вариантов [19]. Разработаны новые тест-системы для идентификации варианта «омикрон» [22-25]. Лабораториям следует сохранять бдительность, чтобы обеспечить выявление снижения чувствительности или неспособности конкретных тест-систем идентифицировать ВВО.

Объединенный Исследовательский Центр (ОИЦ) Европейской комиссии составил [базу данных об устройствах и методиках in vitro тестирования на COVID-19](#), в которой собрана и опубликована информация о тест-системах для COVID-19. ОИЦ разработал методику для специфичного выявления варианта «омикрон» с помощью МАНК и подтвердил её валидность [26].

Тест-системы для качественного анализа методом ОТ-ПЦР позволяют определять разные сублинии варианта «омикрон» от BA.1 до BA.5. Метод специфичного определения BA.1 использует делецию Δ69-70 и инсерцию ins214EPE в S-гене BA.1. Образец вируса идентифицируют как BA.1 только при положительном результате анализа на обе целевых мутации (Δ69-70 и ins214EPE) [27]. Поскольку ген S варианта BA.2 не содержит Δ69-70 и ins214EPE, при анализе образца, содержащего BA.2, тест-система для выявления BA.1 методом ОТ-ПЦР даст отрицательный результат по обоим мишеням (Δ69-70 и ins214EPE) [27]. Ген S вариантов BA.3-BA.5 не содержит ins214EPE, однако характеризуется делецией Δ69-70 (https://cov-lineages.org/lineage_list.html). Поэтому при анализе вариантов BA.3-BA.5 тест-система для выявления BA.1 методом ОТ-ПЦР даст положительный результат по Δ69-70 и отрицательный результат по ins214EPE [27]. Кроме того, варианты BA.4 и BA.5 являются носителями характерных мутаций L452R, F486V и R493Q (реверсия) в шиповидном белке. В текущей эпидемиологической ситуации, когда доминирующим вариантом является BA.2, лаборатории могут использовать изменения шиповидного белка L452R/F486V и НЦГ S (тест-система TaqPath™ COVID-19 qPCR [28]) для предварительного скрининга вариантов, однако для подтверждения результатов следует проводить секвенирование по меньшей мере рецептор-связывающего домена шиповидного белка. Нуклеотидная замена G12160A является специфическим маркером вариантов BA.4 и BA.5, который можно использовать при невозможности полного секвенирования рецептор-связывающего домена (RBD). Для различения BA.4 и BA.5 необходимо провести определение несопадающих частей вирусного генома или полногеномное секвенирование (ПГС).

Наличие мутации Δ69-70 может быть использовано как косвенное доказательство присутствия вариантов BA.4 и BA.5 в условиях низкой распространенности других вариантов.

Таблица 1. Аминокислотные замены/делеции/инсерции, использующиеся для скрининга на различные ВВО SARS-CoV-2 (неполный перечень)

Изменения аминокислот шиповидного белка	Альфа (B.1.1.7)	Бета (B.1.351)	Гамма (P.1)	Дельта (B.1.617.2)	Омикрон (B.1.1.529)				
					BA.1	BA.2	BA.3	BA.4	BA.5
Δ69-70	x				x		x	x	X
ins214EPE					x				
S371L/S373P					x				
S371F/S373P						x	x	x	x

K417T			x						
K417N		x			x	x	x	x	x
L452R				x				x	x
T478K				x	x	x	x	x	x
E484K		x	x						
E484Q	(x)								
E484A					x	x	x	x	x
F486V								x	x
N501Y	x	x	x		x	x	x	x	x
P681H	x				x	x	x	x	x
P681R				x					

ВАЖНОЕ ПРИМЕЧАНИЕ: несоответствие праймеров/зондов на соседних участках варианта «омикрон» (или иного) может сделать невозможным выявление аминокислотной замены, даже если в данном варианте эта замена присутствует. Поэтому рекомендуется проводить валидацию методик выявления/характеризации новых вариантов.

Скрининг на однонуклеотидные полиморфизмы путём анализа кривой плавления при специфичной ОТ-ПЦР в реальном времени

Многие платформы для ОТ-ПЦР позволяют проводить анализ кривой плавления. Разработаны коммерческие тест-системы, с помощью которых можно использовать этот метод генотипирования для идентификации определенных аминокислотных замен (например, Δ69-70, S371L/S373P, K417N, N439K, Y453F, E484K, N501Y, A570D, D614G, P681H или V1176F). Такие тест-системы можно использовать для идентификации ВВО.

Таблица 2. Перечень имеющихся тест-систем/протоколов для идентификации варианта «омикрон» SARS-CoV-2 (неполный перечень)

Коммерческая тест-система или собственная разработка	Аминокислотная замена гена шиповидного белка	Методология	Библиография
TiB MolBiol	S371L/S373P	Кривая плавления	[22,23]
TiB MolBiol	ins214EPE	Кривая плавления	[22,23]
TiB MolBiol	E484A	Кривая плавления	[22,23]
TiB MolBiol	E484A, F486V	Кривая плавления	[29]
Thermo Fisher TaqPath	Δ69-70	НЦГ S	[30]
Seegene	E484A, N501Y, ΔH69/V70	ОТ-ПЦР	[31]
ОИЦ	Несколько мишеней	ОТ-ПЦР – идёт проверка	[32]
Центральная вирусологическая лаборатория Министерства здравоохранения Израиля (CVL) и Израильский институт биологических исследований (IIBR)	nsp6 (Orf1a)	Тест-система на основе ОТ-ПЦР – на 16 декабря 2021 г.	[17]
Университетская клиника Женева	Два частичных участка гена S	ОТ-ПЦР и секвенирование по Сэнгеру	[33]
Научно-исследовательский институт гриппа им. А.А.Смородинцева (Санкт-Петербург, Россия)	Делеция ORF1	ОТ-ПЦР	[34]
Государственный институт сывороток (Дания)	ПЦР на 4 мишени, специфичные для варианта «омикрон»	ОТ-ПЦР	[35]

Петлевая изотермическая амплификация с обратной транскрипцией и транскрипционная изотермическая амплификация

Петлевая изотермическая амплификация с обратной транскрипцией (RT-LAMP) и транскрипционная амплификация (TMA) на аппаратах Panther Hologic стали альтернативными методами молекулярного обнаружения SARS-CoV-2. Метод RT-LAMP имеет ряд преимуществ, к которым относят более быстрое получение результатов теста и меньшую ресурсоёмкость при сохранении высокой чувствительности и специфичности, хотя существующие в настоящее время методики не позволяют отличать конкретные ВВО друг от друга [36]. Однако некоторые методики (например, LamPORE) дают потенциальную возможность перехода к секвенированию.

Для оценки этих новых методов и роли, которую они могут сыграть в разных условиях, необходимы надлежащие валидационные клинические исследования.

Экспресс-тесты на выявление антигенов

Экспресс-тесты на выявление антигенов (ЭТВА) могут внести свой вклад в общий потенциал тестирования на SARS-CoV-2 благодаря таким преимуществам как меньший срок получения результата и снижение затрат, особенно при ограниченном потенциале тестирования с помощью МАНК. Однако их чувствительность как правило ниже, чем у ОТ-ПЦР [37]. ЭТВА способны выявлять наличие SARS-CoV-2 (включая варианты вируса), но не позволяют идентифицировать/различать ВВО. Однако они могут помочь снизить дальнейшее распространение за счёт раннего выявления случаев с высокой контагиозностью, что позволяет быстро приступить к отслеживанию контактов или самоизоляции. Комитет по безопасности в области здравоохранения ЕС (HSC) создал техническую рабочую группу (TWG) по диагностическим тестам на COVID-19, которая отвечает за составление и постоянное обновление единого перечня ЭТВА на COVID-19, соответствующих определённым критериям эффективности [38].

Начиная с декабря 2021 года данная рабочая группа непрерывно обсуждала рабочие характеристики ЭТВА в контексте появления ВВО «омикрон». В частности, группа выразила обеспокоенность тем, что ЭТВА фокусируются только на шиповидном белке, без привязки к нуклеокапсидному белку, а также тем, что отбор проб для измерения вирусной нагрузки после инфицирования вариантом «омикрон» проводят в разное время и в разных точках (например, глотка и нос). Группа HSC TWG продолжит наблюдать за ситуацией, в том числе и за появляющимися данными о возможном влиянии варианта «омикрон» на эффективность ЭТВА COVID-19 и, при необходимости, внесёт соответствующие изменения в согласованные критерии.

На данный момент значительного снижения вирусной нагрузки, способной повлиять на эффективность ЭТВА при заражении вариантом «омикрон» (по сравнению с вариантом «дельта»), не выявлено [39,40].

Данные о чувствительности тестов для выявления антигенов не позволяют сделать окончательный вывод. Так, существуют исследования, свидетельствующие о снижении чувствительности по сравнению с более ранними вариантами [41,42], и другие работы, в которых на изолятах вируса [43-45] и клинических образцах [46-51] было показано отсутствие существенной разницы в чувствительности. Как бы то ни было, важно отметить, что все доступные данные относятся к вариантам «омикрон» BA.1/BA.2, а соответствующие исследования вариантов BA.4 и BA.5 ещё не завершены. В настоящее время считается, что ЭТВА, прошедшие надлежащую валидацию, демонстрируют высокую эффективность даже в случае заражения вариантом «омикрон» [52].

Следует отметить, что ЭТВА в основном рассчитаны на выявление вирусного нуклеокапсидного белка N, который в случае варианта «омикрон» отличается не так сильно, как шиповидный белок S. На данный момент ЭТВА, предназначенные для выявления S-белка, и ЭТВА, для которых не указан целевой белок, включены в общий список ЕС [53]. В настоящее время ведутся дополнительные исследования, а лабораториям следует сохранять бдительность, чтобы выявить возможное снижение чувствительности используемых ЭТВА в отношении различных ВВО.

Реакции нейтрализации и описание антигенных характеристик

ECDC и Европейское региональное бюро ВОЗ опубликовали технические рекомендации по мониторингу антигенных характеристик SARS-CoV-2 [6].

ВВИ и ВВО необходимо подвергать более тщательному изучению в рамках процесса оценки рисков с рассмотрением различных элементов риска (например, увеличения способности к распространению, заболеваемости/смертности среди прошедших вакцинацию против COVID-19 и переболевших COVID-19 или ускользания от действия вакцин). Чтобы лаборатории могли оценить, насколько хорошо антитела, выработавшиеся как элемент гуморального иммунного ответа на естественную инфекцию и как элемент

вакцинового иммунитета, могут защищать от циркулирующих вариантов, важно проводить реакцию нейтрализации вируса с использованием реконвалесцентной плазмы/сыворотки инфицированных и вакцинированных людей. Для оценки антигенных характеристик циркулирующих вариантов при этих реакциях следует использовать международные стандарты (см. ниже).

Выделение вируса крайне важно для дальнейшего исследования антигенных характеристик. Выделение вариантов BA.4/5, как и прочих вирусов SARS-CoV-2, следует проводить в лабораториях 3 уровня биобезопасности (УББ 3). Клетки почки африканской зеленой обезьяны с гиперэкспрессией человеческих ACE2 и TMPRSS2 (Vero E6-ACE2-TMPRSS2; университет Глазго) сохраняют эффективность и при культивировании вирусов варианта «омикрон» [54], включая варианты BA.4 и BA.5 (Bruno Lina, университетская больница Лиона, частная беседа). Однако опубликованы сообщения о нарушениях репликации по сравнению с вариантом «дельта» [55]. Центрифугирование микропланшетов (37°C, 30 минут, 900G) повышает степень инфицирования клеток. Оптимальный рост культуры наблюдается в интервале между 72 и 96 часами культивирования (Bruno Lina, университетская больница Лиона, частная беседа). Лаборатории, работающие над реакциями нейтрализации и в силу этого культивирующие вирусы SARS-CoV-2, должны учитывать, что последовательная культивация вариантов SARS-CoV-2 в клетках Vero E6 или клетках иных типов может привести к мутациям сайта расщепления фурином, которые влияют на особенности роста и поведения вируса *in vitro* или *in vivo*. Распространение нежелательных мутаций можно снизить путём выращивания вирусов в таких клетках, как Vero/hSLAM, и частого подтверждения последовательностей (рекомендуются методы глубокого секвенирования) [56].

Разработано множество лабораторных методов, позволяющих определять потенциал нейтрализации вируса. К примерам таковых относятся реакция подавления бляшкообразования (РПБО), реакция микронейтрализации и реакция нейтрализации псевдовирусов [57-59]. Анализы с использованием изолятов SARS-CoV-2, способных к репликации, обычно проводятся либо в виде реакции подавления бляшкообразования/фокусообразования, либо в виде анализов, основанных на TCID50 (медианной цитопатогенной дозе). Однако у них есть существенный недостаток: работа с ними возможна только в лабораториях УББ-3 и часто весьма трудоёмка. С другой стороны, анализы, в которых используются неспособные к репликации псевдовирусы, можно проводить в условиях УББ-2, однако для последних необходимо создать псевдовирусы, специфичные для изучаемого варианта. Так как для всех реакций нейтрализации требуются живые клетки, то их сложнее стандартизировать, чем молекулярные анализы. Таким образом, важнейшим этапом является проверка робастности эти анализов [60].

Для оценки нейтрализационного потенциала сывороток в различных ситуациях, связанных с пациентами, в панели сыворотки необходимо включать образцы сыворотки различных пациентов (бессимптомных, симптоматических и выздоравливающих после тяжёлого заболевания), отбираемые с разной периодичностью (например, через 14 суток после появления симптомов или отбора образца в случае бессимптомной инфекции, а также через 3–6 месяцев или позднее), при их доступности для лаборатории, где проводится тестирование. В случае сыворотки привитых можно охватить следующие сроки и схемы вакцинации: 14 дней и 3–6 месяцев после второй дозы и 14 дней либо 3–6 месяцев после ревакцинации. Кроме того, для сравнения было бы желательно охватить сыворотки после гетерологичных прививки и ревакцинации или заражения с последующей прививкой любой вакциной [18].

Для сравнения результатов реакций нейтрализации с другими лабораториями следует использовать Международный стандарт антител ВОЗ (MC ВОЗ) или, если он недоступен, так называемый рабочий реагент NIBSC (21/234) или эталонную сыворотку с высоким титром (20/150) [57,61-63]. Следует отметить, что MC ВОЗ по-разному взаимодействует с каждым вариантом, поэтому при предоставлении любых данных, в которых проводится сравнение с MC ВОЗ, всегда следует указывать исследуемый вариант. В тест-системы на основе реакции нейтрализации важно включать представителей штаммов, относящихся к различным вариантам (стандартный вирус, D614G, «альфа», «бета», «гамма», «дельта» и «омикрон»; как минимум желательно включать D614G, «альфа», «бета», «дельта» и «омикрон»). Для тестирования следует готовить 2-3 параллельных опыта и проводить не менее 2-3 повторных независимых экспериментов.

В ряде исследований с помощью различных тест-систем на основе реакции нейтрализации уже рассматривались антигенные свойства ВВО и ВВИ – например, вариантов SARS-CoV-2 501Y.V2 [64], «альфа» [65], «бета» [66], «дельта» [67], «эта» [66], «гамма» [68], «лямбда» [65] и «омикрон» [66,69,70]. Дополнительные тесты на В-лимфоциты и Т-лимфоциты позволят получить более детальную информацию об иммунном ответе на различные ВВО и коррелятах протекции, не связанных с нейтрализующими антителами.

Страны ЕС/ЕЭЗ могут запросить поддержку в начале эксплуатации тест-систем для определения антигенных свойств или инструкции по передаче образцов/изолятов вируса для определения антигенных свойств, обратившись по адресу <mailto:covid.microbiology@ecdc.europa.eu>, а не входящие в ЕС/ЕЭЗ страны могут обращаться с теми же целями по адресу <mailto:euinfluenza@who.int>. Референс-лаборатории Европейского региона ВОЗ по COVID-19 могут предоставлять странам поддержку в определении антигенных характеристик; перечень референс-лабораторий приведён [здесь](#). Результаты определения антигенных характеристик новых ВВО следует немедленно передавать в ECDC и Европейское региональное бюро ВОЗ. Для распространения данных, полученных в странах ЕС/ЕЭЗ, и обсуждения их авторизованными пользователями из разных стран можно использовать конфиденциальную и безопасную платформу EpiPulse (<https://epipulse.ecdc.europa.eu>).

Соображения по поводу выбора типа образцов и методов

Для обеспечения достоверности получаемых сведений и их правильной интерпретации в общие стратегии надзора за вирусами, вызывающими респираторные заболевания, следует включить генетический мониторинг. Вопросы формирования выборки и выбора методов являются ключевыми и зависят от целей надзора.

- Странам рекомендовано сохранять бдительность и отслеживать сигналы о появлении или включении в список новых линий/вариантов, а также подготовиться к увеличению нагрузки по тестированию и секвенированию при получении сигнала о скором появлении нового ВВО, ВВИ или ВТДМ.
- Для идентификации ВВО может проводиться выборочный скрининг образцов, положительных на SARS-CoV-2. Скрининг лиц, совершающих поездки, неэффективен для сдерживания завоза нового варианта, однако при необходимости сдерживать или отсрочить завоз и распространение нового
- ВВО в Европе из других частей света желательно проводить скрининг при всех случаях заболевания, связанных с поездками, с целью быстрого выделения вируса и отслеживания контактов при каждом заболевании, а также секвенирование для оценки распространенности ВВО в данной группе пациентов [71]. При использовании методики на основе МАНК все образцы (при спорадическом выявлении или низкой распространённости ВВО) или как минимум некоторое подмножество образцов в рамках скрининга (если ВВО уже распространился в местном сообществе) следует отобрать для дальнейшего подтверждающего секвенирования [18].
- Если процесс отбора образцов не является репрезентативным, например, отбор образцов для секвенирования основан на образцах для подтверждения при скрининге на НЦГ S, то возможно искажение результатов секвенирования [18]. Для тестирования репрезентативных выборок следует отдать предпочтение секвенированию; однако скрининговые методы также могут быть полезны, так как быстрое получение результата важно для обоснования принимаемых мер общественного здравоохранения [72].
- Чтобы использовать скрининговый метод в качестве показателя ситуации в целом, для оценки доли вирусов с несоответствием целевому гену S можно проводить секвенирование или выявление образцов, положительных на ВВО, другими скрининговыми методами [18].
- Параллельно следует проводить ПГС для определения генетических характеристик вируса с целью мониторинга его эволюции. Для этих целей при формировании выборки следует отбирать репрезентативные образцы в следующих условиях: новые кластеры случаев заболевания, пациенты с нарушениями иммунной системы или иными сопутствующими заболеваниями, которые приводят к увеличению периода репликации и выделения вируса, случаи с необычной клинической картиной заболевания, сниженной реакцией на терапию, включая противовирусные средства, а также случаи с предположительно зоонозным путем передачи вируса или предположительно изменением эффективности методов диагностики (антитела, антиген, молекулярный анализ) [73].
- В зависимости от имеющихся ресурсов, ПГС можно проводить для решения дополнительных задач, в т.ч. анализа вспышек, филодинамического анализа и других научных исследований.
- Может потребоваться секвенирование вирусов из регионов, где наблюдается повышенная заболеваемость, что может указывать на изменение характеристик вируса (например, повышение трансмиссивности или уклонение от иммунного ответа) для первоначальной идентификации новых ВВО [73].
- Для мониторинга антигенных свойств циркулирующих вирусов и их соответствия вакцинам следует оценивать репрезентативную выборку вирусов методом реакции нейтрализации в национальных или международных референс-лабораториях [6]. В приоритетном порядке следует анализировать образцы, полученные в следующих условиях: вспышки заболеваемости, пациенты с нарушениями иммунной системы или иными сопутствующими заболеваниями, которые приводят к увеличению периода репликации и выделения вируса, случаи с необычной клинической картиной заболевания, сниженной реакцией на терапию, включая противовирусные средства, а также случаи с предположительно зоонозным путем передачи вируса или предположительно изменением эффективности методов диагностики (антитела, антиген, молекулярный анализ).
- Дополнительные тесты на В-лимфоциты и Т-лимфоциты позволят получить более детальную информацию об иммунном ответе на различных ВВО и возможных иммунных коррелятах протекции, не связанных с нейтрализующими антителами.

Рекомендации по отбору образцов и расчёту минимального количества вирусов, подлежащих секвенированию в целях эпиднадзора, приведены в документе ECDC Guidance for representative and targeted genomic SARS-CoV-2 monitoring [Руководство по репрезентативному и целенаправленному мониторингу геномной информации SARS-CoV-2] [5].

Оценка качества

Перед внедрением нового метода тестирования или новой тест-системы необходимо провести валидацию и проверку, чтобы подтвердить, что рабочие технологии лабораторной тест-системы позволяют выявлять циркулирующие вирусы [74]. В лабораториях должна быть внедрена система обеспечения качества; им также рекомендуется участвовать во внешних схемах оценки качества или проводить межлабораторное сопоставление результатов анализа некоторого подмножества образцов [74]. В 2022 г. ECDC и Европейское региональное бюро ВОЗ планируют провести молекулярную внешнюю оценку качества для национальных референс-лабораторий по COVID-19. За дополнительной информацией обращайтесь по адресу covid.microbiology@ecdc.europa.eu.

Геномика является наилучшим инструментом для идентификации новых вариантов. Диагностическим лабораториям необходимо сохранять бдительность, чтобы обнаруживать любые несоответствия между праймерами и зондами для МАНК (например, ОТ-ПЦР и анализы на ОНП) и геномами циркулирующих вирусов, а также способностью к выявлению вирусов в других тестах, в частности, ЭТВА, и адаптировать методики секвенирования по Сэнгеру. Подавляющее большинство сайтов связывания праймеров/зондов в коммерческих тест-системах широкой публике неизвестны. Важно отметить случайную природу того факта, что некоторые тест-системы, целевым для которых является ген S, могут использоваться как вспомогательное средство скрининга на некоторые варианты. Для всех тест-систем крайне важно отслеживать возможные случаи неоптимальной работы и информировать производителя коммерческой тест-системы и международные сети здравоохранения, противодействующие SARS-CoV-2, ECDC и Европейское региональное бюро ВОЗ о любых проблемах, относящихся к той или иной тест-системе.

ОИЦ отслеживает рабочие характеристики тест-систем на основе ОТ-ПЦР и публикует сведения на [информационной панели ОИЦ](#)¹. Лабораториям настоятельно рекомендуется проверять эффективность используемых протоколов по информационной панели ОИЦ. Фонд FIND также проводит независимые исследования по оценке для подтверждения предела обнаружения (ПО); результаты публикуются на сайте фонда² [75].

Отчетность о результатах

Специалисты по обработке данных национальных органов общественного здравоохранения в регистрирующих странах должны еженедельно передавать отчетность о случаях инфекции SARS-CoV-2 в [Европейскую систему эпиднадзора \(TESSy\)](#) с использованием наиболее актуальной версии протокола [предоставления отчетности о COVID-19](#) [76]. Отчетность об обнаружении подозрительного сигнала, связанного с линиями SARS-CoV-2, которые регистрирующая страна считает значимыми, следует немедленно направлять через назначенных представителей стран ЕС/ЕЭЗ в систему EpiPulse и через назначенных представителей всех стран региона в Систему раннего предупреждения и реагирования (EWRS) и ММСП, а сведения о случаях обнаружения вариантов следует еженедельно направлять в TESSy.

Консенсусные последовательности SARS-CoV-2 следует своевременно передавать в GISAID и, по возможности, на портал данных о COVID-19 (желательно в течение 1 недели после отбора образца). По возможности следует передавать необработанные данные в [Европейского архива нуклеотидов](#) (ENA) для размещения на [портале данных о COVID-19](#).

Что касается вариантов BA.4 и BA.5, ECDC приглашает назначенных представителей ЕС/ЕЭЗ перейти по ссылке на событие в системе EpiPulse (<https://epipulse.ecdc.europa.eu/ebs/#/item/details/2022-IRV-00003>) для неформального обсуждения и передачи информации об указанных вариантах, включая предварительные и частично готовые результаты. К запрашиваемой информации относится оценка эпидемиологической и микробиологической ситуации в выбранной стране, информация о появлении вариантов, которая ещё не передана в систему TESSy, информация о доступности изолятов вируса и текущей деятельности по их описанию, в том числе новые данные о тяжести заболевания, трансмиссивности вируса и его способности избегать иммунного ответа и об эффективности диагностики/лечения. В дальнейшем передавать отчеты о случаях следует через систему TESSy, желательно в формате записи о случае заболевания NCOV.

Переменные для предоставления отчетности о вариантах реализованы в типах записей TESSy для сводных данных и данных по отдельным случаям. Результаты, касающиеся НЦГ S, следует передавать с использованием соответствующего кодированного значения. В типе записи NCOV для данных по отдельным случаям следует указывать в том числе идентификатор последовательности (идентификатор GISAID). Исходные данные секвенирования и номера добавления в ENA/Sequence Read Archive (SRA), при их наличии, также следует передавать в TESSy, для чего заполняется соответствующая переменная. Кроме того, следует передавать все имеющиеся эпидемиологические данные, в том числе об условиях получения образца, о

¹ Информационная панель ОИЦ находится по адресу: https://covid-19-diagnostics.jrc.ec.europa.eu/devices?device_id=&manufacturer=&text_name=&marking=&method=1&rapid_diag=&target_type=5&field-1=HSC+common+list+%28RAT%29&value-1=1&search_method=AND#form_content

² Веб-сайт FIND: <https://www.finddx.org/covid-19/sarscov2-eval-molecular/molecular-eval-results/>

том, получен ли образец в рамках репрезентативной выборки или целевого эпиднадзора, является ли случай завозным или локальным, и/или о вероятной стране заражения (некоторые переменные можно указать только используя тип записи для данных об отдельных случаях – подробные указания см. в [протоколе предоставления отчетности](#)). Это позволит проводить более точный анализ и интерпретацию данных путём выявления репрезентативных случаев, отражающих распространённость вариантов в местном сообществе.

За содействием в выгрузке в базу данных TESSy обращайтесь по адресу tessy@ecdc.europa.eu. За помощью в интерпретации/предоставлении отчётности о результатах секвенирования обращайтесь по адресу covid.microbiology@ecdc.europa.eu.

Помощь лабораторного персонала

ECDC и Европейское региональное бюро ВОЗ координируют оказание поддержки странам Европейского региона ВОЗ. ECDC поддерживает наращивание потенциала в области секвенирования и проведения реакций нейтрализации среди государств-членов ЕС/ЕЭЗ. За дополнительной информацией обращайтесь по адресу covid.microbiology@ecdc.europa.eu. Страны, желающие получить поддержку от Европейского регионального бюро ВОЗ, могут обращаться по адресу euinfluenza@who.int.

К эталонным вирусам для реакций нейтрализации, конструктам для анализов с использованием псевдовирусов и контрольным материалам для анализов с помощью МАНК можно получить доступ через ресурс [European Virus Archive Global \(EVAg\)](#) и через Национальный институт биологических стандартов и контроля (NIBSC). ВОЗ организовала центр [BioHub](#) с целью обмена материалами.

Обмен информацией и протоколами

Европейское региональное бюро ВОЗ совместно с ECDC создали платформу обмена алгоритмами действий/информацией EZCollab для обмена протоколами, связанными с COVID-19. Регистрацию можно пройти по адресу: https://ezcollab.who.int/euroflu/flulab/covid19_protocols.

Список экспертов, принявших участие в подготовке настоящего документа

Эксперты ECDC, участвовавшие в разработке документа (в алфавитном порядке): Eeva Broberg, Theresa Enkirch, Annette Kraus, Angeliki Melidou, Maximilian Riess, Maja Vukovikj.

Эксперты Европейского регионального бюро ВОЗ, участвовавшие в разработке документа (в алфавитном порядке): Алина Гусейнова, Marco Marklewitz, Karen Nahapetyan, Richard Pebody.

Выражение признательности: мы хотели бы выразить благодарность членам совместной рабочей группы ECDC/Европейского регионального бюро ВОЗ по определению характеристик вирусов и сотрудникам референс-лабораторий ВОЗ по COVID-19 за проведённое ими рецензирование настоящего документа.

Финансирование

Для разработки настоящего документа ВОЗ и ECDC использовали собственные средства.

Библиография

1. European Centre for Disease Prevention and Control. SARS-CoV-2 variants of concern. 2021. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>
2. European Centre for Disease Prevention and Control. Sequencing of SARS-CoV-2: first update. 2021. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Sequencing-of-SARS-CoV-2-first-update.pdf>
3. World Health Organization. Genomic sequencing of SARS-CoV-2: a guide to implementation for maximum impact on public health. 2021. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/338480>
4. Всемирная организация здравоохранения. Геномное секвенирование SARS-CoV-2 для целей общественного здравоохранения: временные рекомендации, 8 января 2021 г. URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/338483/WHO-2019-nCoV-genomic_sequencing-2021.1-rus.pdf?sequence=17&isAllowed=y
5. European Centre for Disease Prevention and Control. Guidance for representative and targeted genomic SARS-CoV-2 monitoring. 2021. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Guidance-for-representative-and-targeted-genomic-SARS-CoV-2-monitoring-updated-with%20erratum-20-May-2021.pdf>
6. European Centre for Disease Prevention and Control. Technical guidance for antigenic SARS-CoV-2 monitoring. 2022. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Antigenic-SARS-CoV-2-monitoring-Joint-ECDC-WHO-report-June-2022.pdf>
7. Hamouda M, Mustafa F, Maraqa M, Rizvi T, Aly Hassan A. Wastewater surveillance for SARS-CoV-2: Lessons learnt from recent studies to define future applications. The Science of the total environment. 2021 Mar 10;759:143493.
- 7a. Health Organization. Environmental surveillance for SARS-COV-2 to complement public health surveillance : interim guidance, 14 April 2022. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/353158>
8. Всемирная организация здравоохранения. Сквозная интеграция дозорного эпиднадзора за SARS-CoV-2 и гриппом: пересмотренное временное руководство, 31 января 2022 г. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/351409/WHO-2019-nCoV-Integrated-sentinel-surveillance-2022.1-rus.pdf?sequence=5&isAllowed=y>
- 8a. Всемирная организация здравоохранения. Эпидемиологический надзор за COVID-19: временные рекомендации, 22 июля 2022 г. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/360580/WHO-2019-nCoV-SurveillanceGuidance-2022.2-rus.pdf?sequence=19&isAllowed=y>
9. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Transition from COVID-19 emergency surveillance to routine surveillance of respiratory pathogens. 2021. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/COVID-19-surveillance-guidance.pdf>
10. DNA Pipelines R&D BF, Diana Rajan, Emma Betteridge, Lesley Shirley, Michael Quail, Naomi Park, Nicholas Redshaw, Iraad F Bronner, Louise Aigrain, Scott Goodwin, Scott Thurston, Stefanie Lensing, James Bonfield, Keith James, Nicholas Salmon, Charlotte Beaver, Rachel Nelson, David K. Jackson, Alex Alderton & Ian Johnston. COVID-19 ARTIC v4.1 Illumina library construction and sequencing protocol - tiled method V.2. 2022. URL: https://www.protocols.io/view/covid-19-artic-v4-1-illumina-library-construction-j8nlk4b36g5r/v2?version_warning=no
11. Daniels RS, Harvey R, Ermetal B, Xiang Z, Galiano M, Adams L, et al. A Sanger sequencing protocol for SARS-CoV-2 S-gene. Influenza and other respiratory viruses. 2021 Nov;15(6):707-10.
12. Laís Ceschini MFB, Viviane do Carmo Vasconcelos de Carvalho, Cássia Docena, Marcelo Henrique Santos Paiva, Gabriel Luz Wallau 2022. VOC and VOI (SARS-Cov-2) identification by Sanger Sequencing . protocols.io 2022. URL: <https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.ewov1nxqkgr2/v2>
13. Université de Genève and Hôpitaux Universitaires de Genève. Protocol for specific RT-PCRs for marker regions of the Spike region indicative of the UK SARS-CoV-2 variant B.1.1.7 and the South African variant 501Y.V2 2021. URL: https://www.hug.ch/sites/interhug/files/structures/laboratoire_de_virologie/protocol_amplification_voc_20201201_uk_geneva.pdf
14. Volz E, Mishra S, Chand M, Barrett JC, Johnson R, Geidelberg L, et al. Transmission of SARS-CoV-2 Lineage B. 1.1. 7 in England: Insights from linking epidemiological and genetic data. MedRxiv. 2021 4 January 2021;4 January 2021 URL: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.12.30.20249034v1.full>
15. US Food and Drug Administration. Genetic Variants of SARS-CoV-2 May Lead to False Negative Results with Molecular Tests for Detection of SARS-CoV-2 - Letter to Clinical Laboratory Staff and Health Care Providers. 2021. URL: <https://www.fda.gov/medical-devices/letters-health-care-providers/genetic-variants-sars-cov-2-may-lead-false-negative-results-molecular-tests-detection-sars-cov-2>
16. Dudas G, Hong SL, Potter BI, Calvignac-Spencer S, Niatou-Singa FS, Tombolomako TB, et al. Emergence and spread of SARS-CoV-2 lineage B.1.620 with variant of concern-like mutations and deletions. Nat Commun. 2021 Oct 1;12(1):5769. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34599175>
17. Oran E, Beth-Din A, Asraf H, Levy V, Kabat A, Mannasse B, et al. Specific detection of SARS_CoV-2 B.1.1.529 (Omicron) variant by four RT-qPCR differential assays. medRxiv. 2021:2021.12.07.21267293. URL: <https://www.medrxiv.org/content/medrxiv/early/2021/12/07/2021.12.07.21267293.full.pdf>
18. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Methods for the detection and characterisation of SARS-CoV-2 variants – first update. 2021. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Methods-for-the-detection-and-characterisation-of-SARS-CoV-2-variants-first-update.pdf>
19. US Food and Drug Administration. SARS-CoV-2 Viral Mutations: Impact on COVID-19 Tests. 2021. URL: <https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-covid-19-and-medical-devices/sars-cov-2-viral-mutations->

[impact-covid-19-tests](#)

20. Vogels CBF AT, Breban M, Fauver JR, Grubaugh ND. Multiplexed RT-qPCR to screen for SARS-CoV-2 B.1.1.7 variants: Preliminary results 2021. URL: <https://virological.org/t/multiplexed-rt-qpcr-to-screen-for-sars-cov-2-b-1-1-7-variants-preliminary-results/588>
21. Korukluoglu G, Kolukirik M, Bayrakdar F, Ozgumus GG, Altas AB, Cosgun Y, et al. 40 minutes RT-qPCR Assay for Screening Spike N501Y and HV69-70del Mutations. bioRxiv. 2021 26 January 2021 URL: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.01.26.428302v1.full.pdf>
22. Medical Device Network. TIB Molbiol develops new VirSNIp test kits for Omicron variant detection. 2021. URL: <https://www.medicaldevice-network.com/news/tib-molbiol-virsnip-kits-omicron-variant/>
23. F. Hoffmann-La Roche Ltd. Roche has rapidly developed additional testing options to differentiate mutations in the Omicron SARS-CoV-2 variant. 2021. URL: <https://www.roche.com/dam/jcr:d2a34e06-2552-4699-b2c3-195d93636fed/en/03122021-mr-omicron-sarscov2-variant-e.pdf>
24. Erster O, Beth-Din A, Asraf H, Levy V, Kabat A, Mannasse B, et al. SPECIFIC DETECTION OF SARS-CoV-2 B.1.1.529 (OMICRON) VARIANT BY FOUR RT-qPCR DIFFERENTIAL ASSAYS. Pre-print. medRxiv. 2021:2021.12.07.21267293. URL: <http://medrxiv.org/content/early/2021/12/09/2021.12.07.21267293.abstract>
25. Spiess K, Gunalan V, Marving E, Nielsen SH, Jørgensen MGP, Fomsgaard AS, et al. Rapid surveillance platforms for key SARS-CoV-2 mutations in Denmark. Pre-print. medRxiv. 2021:2021.10.25.21265484. URL: <http://medrxiv.org/content/early/2021/10/26/2021.10.25.21265484.abstract>
26. European Commission Joint Research Centre. New PCR test developed by the JRC can detect Omicron variant. 2022 URL: https://joint-research-centre.ec.europa.eu/jrc-news/new-pcr-test-developed-jrc-can-detect-omicron-variant-latest-testing-eu-scientists-confirms-2021-12-21_en
27. Phan T, Boes S, McCullough M, Gribischaw J, Marsh JW, Harrison LH, et al. First detection of SARS-CoV-2 Omicron BA.4 variant in Western Pennsylvania, United States. Journal of Medical Virology. n/a(n/a) URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jmv.27846>
28. Tegally H, Moir M, Everatt J, Giovanetti M, Scheepers C, Wilkinson E, et al. Continued Emergence and Evolution of Omicron in South Africa: New BA.4 and BA.5 lineages. medRxiv. 2022:2022.05.01.22274406. URL: <http://medrxiv.org/content/early/2022/05/02/2022.05.01.22274406.abstract>
29. TIB MOLBIOL. RT-PCR test kits and VirSNIp mutation assays for variant tracking. URL: <https://www.tib-molbiol.de/de/covid-19>
30. Thermo Fisher Scientific. Thermo Fisher Scientific Confirms Detection of SARS-CoV-2 in Samples Containing the Omicron Variant with its TaqPath COVID-19 Tests. 2021. URL: <https://thermofisher.mediaroom.com/2021-11-29-Thermo-Fisher-Scientific-Confirms-Detection-of-SARS-CoV-2-in-Samples-Containing-the-Omicron-Variant-with-its-TaqPath-COVID-19-Tests>
31. Seegene. Seegene's High Multiplex PCR Assay Capable of Detecting New Omicron Variant. 2021. URL: https://www.seegene.com/press_release/seegene%E2%80%99s_high_multiplex_pcr_assay_capable_of_detecting_new_omicron_variant_2021
32. Petrillo MQ, M.; Corbisier, P.; Marchini, A.; Buttinger, G.; Van den Eede, G.;. In Silico Design of Specific Primer Sets for the Detection of B.1.1.529 SARS-CoV-2 Variant of Concern (Omicron). Zenodo. 2021 01 December 2021 URL: <https://zenodo.org/record/5747872#.YayuytDMKbg>
33. EZCollab. COVID-19 protocol sharing. 2021. URL: https://ezcollab.who.int/euroflu/flulab/covid19_protocols
34. Yolshin N, Fadeev A, Komissarov A. RT-PCR protocol for the detection ORF1 11288–11296 deletion (NSP6 106-108del) in SARS-CoV-2 genome. Protocols.io; 2021. URL: <https://www.protocols.io/view/rt-pcr-protocol-for-the-detection-orf1-11288-11296-bvf9n3r6>
35. Spiess K, Gunalan V, Marving E, Nielsen SH, Jørgensen MGP, Fomsgaard AS, et al. Rapid surveillance platforms for key SARS-CoV-2 mutations in Denmark. medRxiv. 2021:2021.10.25.21265484. URL: <https://www.medrxiv.org/content/medrxiv/early/2021/10/26/2021.10.25.21265484.full.pdf>
36. Dao Thi VL, Herbst K, Boerner K, Meurer M, Kremer LP, Kirrmaier D, et al. A colorimetric RT-LAMP assay and LAMP-sequencing for detecting SARS-CoV-2 RNA in clinical samples. Sci Transl Med. 2020 Aug 12;12(556):eabc7075. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32719001>
37. European Centre for Disease Prevention and Control. Options for the use of rapid antigen tests for COVID-19 in the EU/EEA - first update. 2021. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Options-for-the-use-of-rapid-antigen-tests-for-COVID-19-first-update.pdf>
38. EUROPEAN COMMISSION. A common list of COVID-19 rapid antigen tests; A common standardised set of data to be included in COVID19 test result certificates; and A common list of COVID-19 laboratory based antigenic assays 2021. URL: https://ec.europa.eu/health/sites/default/files/preparedness_response/docs/covid-19_rat_common-list_en.pdf
39. Hay JA, Kissler SM, Fauver JR, Mack C, Tai CG, Samant RM, et al. Viral dynamics and duration of PCR positivity of the SARS-CoV-2 Omicron variant. Pre-print. medRxiv. 2022:2022.01.13.22269257. URL: <http://medrxiv.org/content/early/2022/01/14/2022.01.13.22269257.abstract>
40. Puhach O, Adea K, Hulo N, Sattonnet P, Genecand C, Iten A, et al. Infectious viral load in unvaccinated and vaccinated patients infected with SARS-CoV-2 WT, Delta and Omicron. Pre-print. medRxiv. 2022:2022.01.10.22269010. URL: <http://medrxiv.org/content/early/2022/01/18/2022.01.10.22269010.abstract>
41. Osterman A, Badell I, Basara E, Stern M, Kriesel F, Eletreby M, et al. Impaired detection of omicron by SARS-CoV-2 rapid antigen tests. Medical Microbiology and Immunology. 2022 2022/06/01;211(2):105-17. URL: <https://doi.org/10.1007/s00430-022-00730-z>
42. Wagenhäuser I, Knies K, Hofmann D, Rauschenberger V, Eisenmann M, Gabel A, et al. Virus Variant

- Specific Clinical Performance Assessment of SARS-CoV-2 Rapid Antigen Tests in Point-of-Care Use Including Omicron VOC. Pre-print. URL: https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=4075840
43. Bekliz M, Adea K, Alvarez C, Essaidi-Laziosi M, Escadafal C, Kaiser L, et al. Analytical sensitivity of seven SARS-CoV-2 antigen-detecting rapid tests for Omicron variant. medRxiv. 2021
44. National Institute for Public Health and Environment (RIVM). Technical evaluation of SARS-CoV-2 antigen self-tests with Omicron variant 2021 URL: https://www.rivm.nl/sites/default/files/2021-12/Technical-evaluation-of-SARS-CoV-2-Self-test-with-omicron-variant_Final.pdf
45. Staten Serum Institute. Testing of SARS-CoV-2 rapid antigen tests detection of variants (Delta and Omicron BA.1 and BA.2). 2022 URL: <https://en.ssi.dk/-/media/arkiv/subsites/covid19/diagnostik/afprvning-af-sars-cov-2-antigentests-for-pvisning-af-varianter.pdf?la=en>
46. Adamson B, Sikka R, Wyllie AL, Premririt P. Discordant SARS-CoV-2 PCR and Rapid Antigen Test Results When Infectious: A December 2021 Occupational Case Series. Pre-print. medRxiv. 2022:2022.01.04.22268770. URL: <http://medrxiv.org/content/early/2022/01/05/2022.01.04.22268770.abstract>
47. Goodall BL, LeBlanc JJ, Hatchette TF, Barrett L, Patriquin G. Investigating sensitivity of nasal or throat (ISNOT): A combination of both swabs increases sensitivity of SARS-CoV-2 rapid antigen tests. Pre-print. medRxiv. 2022:2022.01.18.22269426. URL: <http://medrxiv.org/content/early/2022/01/21/2022.01.18.22269426.abstract>
48. Landaverde L, Turcinovic J, Doucette-Stamm L, Gonzales K, Platt J, Connor JH, et al. Comparison of BinaxNOW™ and SARS-CoV-2 qRT-PCR detection of the Omicron Variant from Matched Anterior Nares Swabs. Pre-print. medRxiv. 2022:2022.01.31.22270206. URL: <http://medrxiv.org/content/early/2022/03/22/2022.01.31.22270206.abstract>
49. Meiners L, Horn J, Mühlemann B, Schmidt ML, Walper F, Menzel P, et al. SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test Sensitivity and Viral Load in Freshly Symptomatic Hospital Employees, December 2020 to February 2022. Pre-print. Available at SSRN 4099425. 2022 URL: https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=4099425
50. de Michelena P, Torres I, Ramos-García Á, Gozalbes V, Ruiz N, Sanmartín A, et al. Real-life performance of a COVID-19 rapid antigen detection test targeting the SARS-CoV-2 nucleoprotein for diagnosis of COVID-19 due to the Omicron variant. Journal of Infection. 2022;84(5):e64-e6. URL: [https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453\(22\)00110-4/fulltext](https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453(22)00110-4/fulltext)
51. Schrom J, Marquez C, Pilarowski G, Wang G, Mitchell A, Puccinelli R, et al. Direct Comparison of SARS-CoV-2 Nasal RT-PCR and Rapid Antigen Test (BinaxNOW™) at a Community Testing Site During an Omicron Surge. medRxiv. 2022:2022.01.08.22268954. URL: <http://medrxiv.org/content/early/2022/01/19/2022.01.08.22268954.abstract>
52. The Global Fund. Current Testing Tools Uncompromised by New COVID-19 Variant of Concern Omicron (B.1.1.529). 2021 URL: <https://www.theglobalfund.org/en/news/2021/2021-11-29-current-testing-tools-uncompromised-by-new-covid-19-variant-of-concern-omicron-b-1-1-529/>
53. European Commission. COVID-19 RADT common list. URL: https://ec.europa.eu/health/system/files/2022-05/covid-19_rat_common-list_en.pdf
54. Peacock TP, Brown JC, Zhou J, Thakur N, Newman J, Kugathasan R, et al. The SARS-CoV-2 variant, Omicron, shows rapid replication in human primary nasal epithelial cultures and efficiently uses the endosomal route of entry. bioRxiv. 2022:2021.12.31.474653. URL: <http://biorxiv.org/content/early/2022/01/03/2021.12.31.474653.abstract>
55. Meng B, Abdullahi A, Ferreira IATM, Goonawardane N, Saito A, Kimura I, et al. Altered TMPRSS2 usage by SARS-CoV-2 Omicron impacts infectivity and fusogenicity. Nature. 2022 2022/03/01;603(7902):706-14. URL: <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04474-x>
56. Funnell SGP, Afrough B, Baczenas JJ, Berry N, Bewley KR, Bradford R, et al. A cautionary perspective regarding the isolation and serial propagation of SARS-CoV-2 in Vero cells. NPJ Vaccines. 2021 Jun 17;6(1):83. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34140522>
57. Perera RAPM, Ko R, Tsang OTY, Hui DSC, Kwan MYM, Brackman CJ, et al. Evaluation of a SARS-CoV-2 Surrogate Virus Neutralization Test for Detection of Antibody in Human, Canine, Cat, and Hamster Sera. Journal of Clinical Microbiology. 2021;59(2):e02504-20. URL: <https://jcm.asm.org/content/jcm/59/2/e02504-20.full.pdf>
58. Bewley KR, Coombes NS, Gagnon L, McInroy L, Baker N, Shaik I, et al. Quantification of SARS-CoV-2 neutralizing antibody by wild-type plaque reduction neutralization, microneutralization and pseudotyped virus neutralization assays. Nat Protoc. 2021 Jun;16(6):3114-40. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33893470>
59. Amanat F, White KM, Miorin L, Strohmeier S, McMahon M, Meade P, et al. An In Vitro Microneutralization Assay for SARS-CoV-2 Serology and Drug Screening. Current protocols in microbiology. 2020 Sep;58(1):e108. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32585083>
60. Riepler L, Rössler A, Falch A, Volland A, Borena W, von Laer D, et al. Comparison of Four SARS-CoV-2 Neutralization Assays. Vaccines. 2021;9(1):13. URL: <https://www.mdpi.com/2076-393X/9/1/13>
61. NIBSC. Biological reference materials. 2021. URL: https://nibsc.org/products/brm_product_catalogue/detail_page.aspx?catid=21/234
62. Medicines & Healthcare Products Regulatory Agency. First WHO International Reference Panel for anti-SARS-CoV-2021. URL: <https://www.nibsc.org/documents/ifu/20-268.pdf>
63. Knezevic I, Mattiuzzo G, Page M, Minor P, Griffiths E, Nuebling M, et al. WHO International Standard for evaluation of the antibody response to COVID-19 vaccines: call for urgent action by the scientific community. Lancet Microbe. 2021 Oct 26 URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34723229>
64. Cele S, Gazy I, Jackson L, Hwa SH, Tegally H, Lustig G, et al. Escape of SARS-CoV-2 501Y.V2 from neutralization by convalescent plasma. Nature. 2021 May;593(7857):142-6. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33780970>
65. Zuckerman N, Nemet I, Kliker L, Atari N, Lustig Y, Bucris E, et al. The SARS-CoV-2 Lambda variant and its neutralisation efficiency following vaccination with Comirnaty, Israel, April to June 2021. Euro Surveill. 2021

- Nov;26(45) URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34763751>
66. Arora P, Rocha C, Kempf A, Nehlmeier I, Graichen L, Winkler MS, et al. The spike protein of SARS-CoV-2 variant A.30 is heavily mutated and evades vaccine-induced antibodies with high efficiency. *Cell Mol Immunol.* 2021 Dec;18(12):2673-5. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34697413>
67. Davis C, Logan N, Tyson G, Orton R, Harvey WT, Perkins JS, et al. Reduced neutralisation of the Delta (B.1.617.2) SARS-CoV-2 variant of concern following vaccination. *PLoS Pathog.* 2021 Dec;17(12):e1010022. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34855916>
68. Naranbhai V, Garcia-Beltran WF, Chang CC, Mairena CB, Thierauf JC, Kirkpatrick G, et al. Comparative immunogenicity and effectiveness of mRNA-1273, BNT162b2 and Ad26.COVID.S COVID-19 vaccines. *medRxiv.* 2021:2021.07.18.21260732. URL: <https://www.medrxiv.org/content/medrxiv/early/2021/10/13/2021.07.18.21260732.full.pdf>
69. Daniel J, Sheward D, Kim C, Pankow A, Dopico X, Martin D, Dillner J, et al. Preliminary Report - Early release, subject to modification quantification of the neutralization resistance of the Omicron Variant of Concern.2021. URL: <https://drive.google.com/file/d/1CuxmNYj5cpluxWXhjjVmuDqntxXwlfXQ/view>
70. Cele S, Jackson L, Khan K, Khoury D, Moyo-Gwete T, Tegally H, et al. SARS-CoV-2 Omicron has extensive but incomplete escape of Pfizer BNT162b2 elicited neutralization and requires ACE2 for infection.2021. URL: <https://www.ahri.org/wp-content/uploads/2021/12/MEDRXIV-2021-267417v1-Sigal.pdf>
71. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Guidance for COVID-19 quarantine and testing options for travellers. . 2021 URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/guidance-covid-19-quarantine-and-testing-travellers>
72. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Methods for the detection and identification of SARS-CoV-2 variants. 2021 URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/340067/WHO-EURO-2021-2148-41903-57493-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
73. World Health Organization (WHO). Genomic sequencing of SARS-CoV-2. A guide to implementation for maximum impact on public health, 8 January 2021 URL: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1326052/retrieve>
74. World Health Organization. Diagnostic testing for SARS-CoV-2: interim guidance, 11 September 2020. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/diagnostic-testing-for-sars-cov-2>
75. Foundation for Innovative New Diagnostics (FIND). FIND EVALUATION UPDATE: SARS-COV-2 MOLECULAR DIAGNOSTICS. 2021. URL: <https://www.finddx.org/covid-19/sarscov2-eval-molecular/>
76. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance and study protocols. 2021. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/surveillance/study-protocols>