

**Прилог кон сертификатот за акредитација на
лабораторија за тестирање**
*Annex to the Accreditation Certificate of
Testing Laboratory*
Бр. ЛТ-058 / No. LT-058

Датум: 07.03.2019
Date: 07.03.2019

Го заменува Прилогот од 30.03.2018
Replaces Annex dated 30.03.2018

1. АКРЕДИТИРАНО ТЕЛО

Македонска академија на науките и уметностите
Истражувачки Центар за генетско инженерство и
биотехнологија „Георги Д. Ефремов“

Accredited body

*Macedonian Academy of Sciences and Arts
Research Center for Genetic Engineering and
Biotechnology “Georgi D. Efremov”*

2. ЛОКАЦИЈА

Булевар „Крсте Мисирков“ бр. 2, 1000 Скопје,
Република Северна Македонија

Location

*Av. “Krstе Mısırkov” No. 2, 1000 Skopje
Republic of North Macedonia*

3. СТАНДАРД

МКС EN ISO/IEC 17025 : 2006

Standard

МКС EN ISO/IEC 17025 : 2006

**4. КРАТОК ОПИС НА ОПСЕГОТ
НА АКРЕДИТАЦИЈАТА**

Молекуларна дијагностика на моногенски наследни болести (таласемии, цистична фиброза, хемофилија) и други наследни состојби (микроделции на Y хромозом, тромбофилии);
Генетско тестирање на наследен карцином на дојка (BRCA1 BRCA2 мутации)
Пренатална дијагностика на најчести хромозомски анеуплоидии (13, 18, 21 и полови хромозоми)
Утврдување на аминокиселински статус во плазма и урина
ДНК анализи за испитувања на фамилијарни релации
Молекуларна детекција и квантификација на инфективни причинители на болести (ХИЦВ, ХБВ и ХПВ)
Микробиолошка идентификација на MALDI-TOF Saramis
Одредување на варијации во број на копии во хуманиот геном (мускулна дистрофија/ заостанување во психомоторниот развој /аутизам/микроделциони синдроми/ абортиран плод/ спинална мускулна атрофија/ туберозна склероза/ неурофиброматоза / полово врзани болести / андроген рецептор / фанконијева анемија)
Молекуларна дијагностика на ретки наследни состојби со примена на нови секвенционирачки технологии

A short description of the accreditation scope

Molecular characterization of monogenic diseases (thalassemia, cystic fibrosis, haemophilia) and other inherited conditions (Y-chromosome microdeletions, thrombophilia)
Genetic testing of breast cancer (BRCA1 and BRCA2 mutations)
Prenatal diagnosis of the most common chromosomal aneuploidies (13, 18, 21 and XY)
Determination of amino acid status in plasma and urine
Familiar relationship testing using DNA methods
Molecular detection and quantification of infectious agents causing diseases (HCV, HBV, HPV)
Microbial identification with MALDI-TOF, Saramis
Detection of Copy number variations in human genome (Muscular dystrophy/ developmental delay/ autism/ Microdeletional syndromes/ Causes of spontaneous miscarriages and aborted material/ Spinal muscular atrophy / Tuberoze sclerosis / Neurofibromatosis / Sex related diseases / Androgen receptor / Fanconi anemia
Molecular characterization of rare inherited diseases using Next Generation Sequencing technologies

5. ДЕТАЛЕН ОПИС НА ОПСЕГОТ НА АКРЕДИТАЦИЈА

Detailed description of the accreditation scope

Класификација по подрачја за областа на тестирање (класификација според ИАРМ Правилникот Р 15):

2. Биологија, Биохемија, 2.1 Молекуларни методи

Класификација по тип на производи/материјали за тестирање (класификација според ИАРМ Правилникот Р 15):

1. Биолошки примероци

Classification according to testing areas (classification according to IARM Regulation R 15):

2. Biology, Biochemistry, 2.1 Molecular methods

Classification according to types of products/materials for testing (classification according to IARM Regulation R 15):

1. Biological samples

<input checked="" type="checkbox"/> фиксен опсег (fixed scope)		<input type="checkbox"/> флексибилен опсег (flexible scope)		<input type="checkbox"/> фиксен / флексибилен опсег (fixed/flexible scope)	
Напомена: Со „*“ се обележува флексибилниот опсег		Степен на флексибилност (според процедурата ПР 05-09): Degree of flexibility (according Procedure PR 05-09):			
		<input type="checkbox"/> нови ажурирани верзии на стандарди/ документи new up-date versions of the standards/ documents	<input type="checkbox"/> нови материјали/производи/предмети и/или карактеристика/својство/аналит кој се мери и/или проширување на мерниот опсег new materials/ products/ items and/or measured characteristic/ property/ analyte, and/or extension of measuring scope	<input type="checkbox"/> нови стандарди/документи, прилагодени на барањата на клиентот new standards/ documents, upon a request by the client	
Вр.	Ознака на стандардната метода, нестандартната метода, метода развиена во лабораторија, метода специфицирана од страна на производителот на опремата, метода објавена од угледна	Наслов на стандардната метода, нестандартната метода, метода развиена во лабораторија, метода специфицирана од страна на производителот на опремата, метода објавена од угледна техничка институција или метода објавена во релевантни	Подрачје (r) на мерење, тестирање; Неодреденост на резултатите од мерењето (u) (таму каде што е значајно)	Материјали односно производи	ч е с т о т а

No.	техничка институција или метода објавена во релевантни научни трудови или весници <i>Reference to standard testing method, nonstandard testing method, method developed by the laboratory, method specified by the manufacturer of the equipment, method published by reputable technical organization or method published in relevant scientific texts or journals</i>	научни трудови или весници <i>Title of standard testing method, nonstandard testing method, method developed by the laboratory, method specified by the manufacturer of the equipment, method published by reputable technical organization or method published in relevant scientific texts or journals</i>	<i>Range (r) of measurement, testing; Uncertainty of result of testing (u) (where relevant)</i>	<i>Materials /Products</i>	<i>f r e q u e n c y</i>
1	Изолација на ДНК / РНК DNA / RNA Isolation				
1.1	Pontcz M, Solowieiczuk D, Harpel B, Mory J, Schwartz E, Surrey E (1982) Construction of human gene libraries from small amounts of peripheral blood: Analyses of β -like globin genes. Hemoglobin, 6: 27-36.	Изолација на ДНК со Фенол-хлороформ екстракција / етанол преципитација DNA isolation with phenol-chloroform extraction / ethanol precipitation method	таласемија цистична фиброза хемофилија мускулна дистрофија детекција на присуство на ХПВ пренатална дијагноза Thalassemia Cystic Fibrosis Hemophilia Muscular Dystrophy Human Papillomavirus Prenatal Diagnosis	Крв со антикоагуланс (EDTA); Ендо - ерзо цервикален брис; Хорионски ресички; Blood (collected in vacutainer with EDTA) Swab – endo/exo cervical chorion villi,	Д D
1.2	High Pure Viral Nucleic Acid Kit, v.16, Roche Diagnostic Corporation	Изолација на ДНК / РНК со користење на комерцијален кит DNA/RNA isolation using commercial kit	детекција и квантификација на ХЦВ или ХБВ утврдување на фамилијарни релации пренатална дијагностика Detection and quantification of Hepatitis C Virus and Hepatitis B Virus Determination of familiar relationship Prenatal Diagnosis	вирусна ДНК/РНК од серум, амнионска течност, брис од уста, Virus DNA / RNA in serum amniotic fluid Buccal swab	Н W
1.3	QIAamp Blood mini kit protokol QIAGEN GmbH, Hilden, Germany	Изолација на ДНК / РНК со користење на комерцијален кит, DNA /RNA isolation using	таласемии цистична фиброза утврдување на фамилијарни релации пренатална дијагностика	Различен биолошки материјал	М М

		commercial kit	Thalassemia Cystic Fibrosis Determination of familiar relationship Prenatal Diagnosis	Various types of biological material	
2	Полимеразно верижна реакција Polymerase Chain Reaction				
2.1	Saiki, R. K., Gelfand, D. H. and Mullis, K. B. (1988) Primer directed enzymatic amplification of DNA with thermostabile DNA polymerase. Science, 239, 487-491 Efremov GD, Dimovski AJ, Plaseska-Karanfilska D, Simjanovska L, Sukarova E, Koceva S. (1999) LABORATORY MANUAL 3rd Edition, ICGEB, MANU.	ПЦР – Умножување на сегменти од ДНК специфични за анализираната состојба PCR – Amplification of specific DNA fragments upon the condition that is analyzed	таласемии цистична фиброза хемофилија у= големина на фрагментот специфичен за конкретната состојба (100 bp DNA Ladder Ready to Load, 1 kb DNA Ladder Ready to Load) Thalassemia Cystic Fibrosis Hemophilia у= determination of the size of the obtained amplified fragment using Size marker - 100 bp DNA Ladder Ready to Load or 1 kb DNA Ladder Ready to Load	ДНК DNA	Д D
2.2	Plaseski T , Noveski P, Trivodalieva S, Efremov GD, Plaseska-Karanfilska D. Quantitative fluorescent-PCR detection of sex chromosome aneuploidies and AZF deletions/duplications. Genet Test. 2008 Dec;12(4):595-605 Pertl B . et al. Quantitative fluorescent PCR for the rapid prenatal detection of common aneuploidies and fetal sex. American Journal of Obstetrics and Gynecol. 177: 899-902, 1997 Dictor M , Wahrenholt J. Single-tube multiplex PCR using type-specific E6/E7 primers and capillary electrophoresis genotypes 21 human papillomaviruses in neoplasia. Infect Agent Cancer. 2011; 6:1 doi: 10.1186/1750-9378-6-1 Davalieva K et al., Fast, reliable and low cost user-developed protocol for detection, quantification and genotyping of hepatitis C. Journal of Virological Methods, 2014, 196:104-	Мултиплекс – флуоресцентен PCR (QF-PCR) Quantitative-Fluorescent Multiplex PCR (QF-PCR)	Микроделекции на Y хромозом и секс-хромозомски промени пренатална дијагностика на хромозомски анеуплоидии на 13, 18, 21 и XY хромозоми HPV - human papiloma virus - типизација HCV- hepatitis C virus – генотипизација у= големина на фрагментот/ите споецифичен/ни за конкретната состојба (100 bp DNA Ladder Ready to Load, LIZ 500 Size standard Marker); Microdeletions of Y and sex-dependent chromosomes Prenatal Diagnosis of chromosomal aneuploidies on 13, 18, 21 and XY chromosomes HPV – Human Papillomavirus typization	ДНК DNA	Д D

	112		HCV- Hepatitis C virus - genotypization y= determination of the size of the obtained amplified fragment using Size marker - 100 bp DNA Ladder Ready to Load and/or LIZ 500 Size standard Marker);		
2.3	AmpFISTR Identifier PCR Amplification Kit , User manual. PE Applied Biosystems, Foster City, CA, USA	ДНК анализи за испитувања на фамилијарни релации DNA analysis for determination of Familiar relationship	утврдување на фамилијарно сродство , y= големина на фрагментите специфичен за 15-те анализирани локуси и амелогенин генот (LIZ 500 Size standard Marker) Determination of familiar relationship y= determination of the size of the obtained amplified fragment using Size marker specific for 15- analyzed loci and Amelogenin locus (LIZ 500 Size standard Marker);	полна крв, брис од уста, Whole blood Buccal swab	H W
2.4	Gap- PCR, ПЦР анализа за присуство на делеции, дупликации во алфа глобински генски комплекс - Liu YT, Old JM, Miles K, Fisher CA, Weatherall DJ, Clegg JB. Rapid detection of alpha-thalassaemia deletions and alpha-globin gene triplication by multiplex polymerase chain reactions. Br J Haematol. 2000;108:295-299. doi: 10.1046/j.1365-2141.2000.01870 - Liu J.Z., Ying Ou C., Wang R., Xiao B., Huang L.J., Chen C.L. Detection of three common deletional a-thalassaemia determinants in Southern China by a single-tube multiplex polymerase chain reaction. Hemoglobin 2004, 28(1) 39-44 - Huisman et al. A Supplement to the	Детекција на три најчести делеции причина за алфа таласемија и една алфа глобин трипликација Detection of three common alpha-thalassaemia deletions and one alpha-globin gene triplication	таласемија Thalassemia	полна крв, брис од уста, Whole blood Buccal swab	H W

	Hemoglobin and Thalassemia Syllabi. 1998: 121-122				
3	Reverzno transkripcionen PCR (RT-PCR) со ПЦР во реално време Real time - Reverse transcription PCR (RT-PCR)				
3.1	Davalieva K, Kiprijanovska S, Plaseska-Karanfilska D. Fast, reliable and low cost user-developed protocol for detection, quantification and genotyping of hepatitis C virus. J Virol Methods. 2014 Feb;196:104-12	Квантификација на Hepatitis C Вирус Quantification of Hepatitis C Virus	квантификација на ХЦВ y= LOD 112 IU/ml Quantification of Hepatitis C Virus y= LOD 112 IU/ml	PHK RNA	H W
3.2	HBV Real-TM Quant, Sacace Biotechnologies, Скалабрини, Италија	Детекција и Квантификација на Hepatitis B Вирус Detection and quantification of Hepatitis B Virus	квантификација на HBV (хепатит Б вирус) y= LOD 300 копии /ml Quantification of Hepatitis B Virus y= LOD 300 copies /ml	ДНК DNA	H W
4	SNaPshot- метода SNaPshot - method				
4.1	Atanasovska B, Bozhinovski G, Plaseska-Karanfilska D, Chakalova L. Efficient detection of Mediterranean β -thalassemia mutations by multiplex single-nucleotide primer extension. PLoS One. 2012;7(10): DOI: 10.1371/journal.pone.0048167	SNaPshot- метода за одредување на 8 најчести мутации во бета таласемичниот ген SNaPshot method for detection of the 8 most common mutations in beta Thalassemia gene	таласемија y= големина на фрагментите специфичени за 8-те анализирани мутации во таласемичните гени (LIZ 120 Size standard Marker) Thalassemia y= determination the size of the 8 analyzed mutations using specific size marker (LIZ 120 Size standard Marker);		M M
4.2	Noveski P, Madjunkova S, Mircevska M, Plaseski T, Filipovski V, Plaseska-Karanfilska D. SNaPshot assay for the detection of the most common CFTR mutations in infertile men. PLoS One. 2014 Nov 11;9(11):e112498, DOI: 10.1371/journal.pone.0112498	SNaPshot- метода за одредување на најчестите мутации во генот за цистична фиброза SNaPshot method for detection of the 11 most common mutations in Cystic Fibrosis gene	цистична фиброза y= големина на фрагментите специфичени за 11-те анализирани мутации во генот за цистична фиброза (LIZ 120 Size standard Marker) Cystic Fibrosis y= determination the size of the 11 analyzed mutations using specific size marker (LIZ 120 Size standard Marker);		M M
4.3	Madjunkova S, Volk M, Peterlin B, Plaseska-Karanfilska D. Detection of thrombophilic mutations related to spontaneous abortions by a multiplex SNaPshot method. Genet Test Mol Biomarkers. 2012	SNaPshot- метода за одредување на најчестите мутации во тромбофиличните гени SNaPshot method for detection of the 10 most	тромбофилии y= големина на фрагментите споецифичени за 10-те анализирани мутации во тромбофиличните гени (LIZ 120 Size standard Marker) Thrombophilia y= determination the size		M M

	Apr;16(4):259-64	common mutations in trombophilic genes	of the 10 analyzed mutations using specific size marker (LIZ 120 Size standard Marker);		
4.4	Maleva I., Madjunkova S., Bozhinovski G., Smickova E., Kondov G., Spiroski Z., Arsovski A., Plaseska-Karanfilska D. Genetic variation of the BRCA1 and BRCA2 genes in Macedonian patients. BJMS Supplement 15 (2012), 81-85	SNaPshot- метода за одредување на најчестите мутации во BRCA1 и BRCA2 гените SNaPshot method for detection of the 14 most common mutations in BRCA1 and BRCA2 genes	Карцином на дојка y= големина на фрагментите специфични за 14-те анализирани мутации во BRCA1 и BRCA2 гените (LIZ 120 Size standard Marker) Breast cancer y= determination the size of the 14 analyzed mutations using specific size marker (LIZ 120 Size standard Marker);		M M
5	Секвенционирање Sequencing		ДНК DNA		
5.1	BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit Applied Biosystems Lincoln Centre Drive Foster City, CA		наследен карцином на дојка - мутации во BRCA1 & BRCA2 хемофилија галасемија цистична фиброза Наследна глувост (GJB2 генот) y=спектрална калибрација, BigDye Terminator v1.1 Matrix Standard Breast cancer-inherited - mutations in BRCA1 and BRCA2 genes Thalassemia Hemophilia Cystic Fibrosis Inherited deafness (GJB2 gene) y=spectral calibration, BigDye Terminator v1.1 Matrix Standard		H W
6	Одредување на аминокиселински статус Aminoacid analysis				
6.1	Preparation of samples for free Amino Acid Analysis. In: The Biochrom Handbook of Amino Acids (Davis M, ed.). Biochrom Ltd, 22 Cambridge Science Park, Cambridge CB4 0FJ, UK. (2006) Biochrom 30, Amino Acid Analyser, Operation Manuel. Biochrom Ltd, 22 Cambridge Science Park, Cambridge CB4 0FJ, UK.(2006)		Вродени грешки во метаболизмот (Одредување на аминокиселините: таурин, аспарагинска киселина, треонин, серин, аспарагин, глутаминска киселина, глутамин, пролин, глицин, аланин, цитрулин, валин, цистин, метионин, изолеуцин, леуцин, тирозин, фенилаланин, орнитин, лизин, хистидин,	плазма, урина Plasma / urine	H W

			<p>триптофан и аргинин) Y= споредбени анализи со Калибрациониот стандард за аминокиселини (Calibration Standard, Physiological fluid for Biochrom 30 AAA)</p> <p>Inherited Methabolic disorder (Determination of amino acids: Taurine, Aspartic acid, Threonine, Serine, Asparagine, Glutamic acid, Glutamine, Proline, Glycine, Alanine, Citruline, alfa-Amino-buturic acid, Valine, Cystine, Methionine, Isoleucine, Leucine, Tyrosine, Phenylalanine, GABA, Ornitine, Lysine, Histidine, Tryptophane and Arginine)</p> <p>Y= comparative analyses using Amino acids Calibration standard (Calibration Standard, Physiological fluid for Biochrom 30 AAA)</p>		
7	<p>Микробиолошка идентификација Microbiological identification</p>				
7.1	<p>AXIMA Performance MALDI TOE/TOE Mass Spectrometer, User manual. Shimadzu, SARAMIS Database for Microbial Identification protocol (Claydon MA et al., (1996)</p>		<p>микробиолошка идентификација на Staphylococcus aureus Pseudomonas aeruginosa Escherichia coli Salmonella enterica Bacillus subtilis Staphylococcus epidermidis Bordotella bronchiseptica Klebsiella pneumoniae Staphylococcus epidermidis Pseudomonas aeruginosa Enterococcus faecalis Streptococcus agalactiae Candida albicans Listeria monocytogenes Microbiological identification: Staphylococcus aureus Pseudomonas aeruginosa Escherichia coli Salmonella enterica Bacillus subtilis Staphylococcus epidermidis Bordotella bronchiseptica Klebsiella pneumoniae Staphylococcus epidermidis Pseudomonas aeruginosa</p>	<p>бактериски култури</p> <p>Microbiological cultures</p>	<p>M</p> <p>M</p>

			<p>Enterococcus faecalis Streptococcus agalactiae Candida albicans Listeria monocytogenes</p>		
8	<p>MLPA - Multiplex Ligation Probe Amplification</p>				
8.1	<p>MLPA General protocol, MPC-Holland користена мешавина на проби: MLPA P034 DMD mix 1, MLPA P035 DMD mix 2, MLPA P245 Microdeletion-1 MLPA P297 Microdeletion-2 MLPA P036 Subtelomeres mix-1, MLPA P070 Subtelomeres mix-2 MLPA P021 SMA, MLPA P060 SMA carrier MLPA P124 TSC1, MLPA P337 TSC2, MLPA P091 CFTR, MLPA P122 NF1 area MLPA P140 HBA MLPA P102 HBB MLPA P185 intersex MLPA P095 aneuploidy MLPA P360 Ychromosome MLPA P074 AR MLPA P031 FANCA mix 1, MLPA P032 FANCA mix 2, MLPA P002 BRCA1 MLPA P045 BRCA2/CHEK2</p>	<p>MLPA метода за одредување на варијации во број на копии во хуманиот геном.</p> <p>MLPA method for determination of copy number variations in human genome</p>	<p>мускулна дистрофија/ заостанување во психомоторниот развој /аутизам/микроделециони синдроми/ абортиран плод / Спинална мускулна атрофија / туберозна склероза / цистична фиброза / неурофиброматоза / таласемии / анеуплоидии / полово врзани болести / Y хромозом / андроген рецептор / фанконијева анемија/карцином на дојка</p> <p>y= споредбени анализи на секој од анализираните фрагменти со нормална и интерна контрола</p> <p>Muscular dystrophy/ developmental delay/ autism/ Microdeletional syndromes/ Causes of spontaneous miscarriages and aborted material/ Spinal muscular atrophy / Tuberosc sclerosis / Cystic Fibrosis Neurofibromatosis / Thalassemias / Sex related diseases / Androgen receptor / Fanconi anemia Breast cancer</p> <p>y=comparison of analyzed fragments with normal and internal controls</p>	<p>ДНК</p> <p>DNA</p>	<p>М</p> <p>М</p>
8.2	<p>Methylation sensitive MLPA General protocol, MPC-Holland користена мешавина на проби: MLPA ME 028</p>	<p>MLPA метода за одредување на варијации во број на копии во хуманиот геном како и метилирачки статус на испитуваните региони</p> <p>MLPA method for determination of copy number variations in human</p>	<p>Прадер Вили / Ангелман синдроми</p> <p>y= споредбени анализи на секој од анализираните фрагменти со нормална и интерна контрола</p> <p>Prader Willi / Angelman syndromes</p> <p>y=comparison of analyzed fragments with normal and</p>	<p>ДНК</p> <p>DNA</p>	<p>М</p> <p>М</p>

		genome and methylation status	internal controls		
9	NGS - Next Generation Sequencing методологија (methodology)				
9.1	TruSight Sequencing Panels, Illumina TruSight One, TruSight Inherited Disease, TruSight Cardio, TruSight Cancer	едновремено таргетирано ресеквенционирање на панел на гени со нови секвенционирачки технологии Targeted resequencing of panel of genes using Next generation sequencing technologies	ретки наследни состојби y= интерна калибрација, користени матрици интерна контрола Rare inherited diseases y= internal calibration, matrices and internal controls	ДНК DNA	M M
10	Микроарејна технологија (methodology)				
10.1	Детекција на варијации во број на копии (Copy Number Variations CNVs) на целиот геном Detection of Copy Number Variations (CNVs) within human genome	Арејна компаративна геномска хибридизација Array Comparative Genomic Hybridization	Утврдување на присуство на делеции / дупликации во хромозомите кај лица со интелектуална попреченост Detection of Genomic Copy Number Variants in evaluation of intellectual disability		M M

Наташа Несторовска- Спасовска
Natasha Nestorovska Spasovska

В.д Директор
Acting Director

