

Vážené kolegyně, Vážení kolegové,

na jaře letošního roku se svět výrazně změnil kvůli pandemii způsobené koronavirem SARS-Cov-2. Laboratorní diagnostika se upřela na detekci viru a stanovení protilátek, které vytváří lidské tělo. Objevily se desítky diagnostických sestav a rychlotestů různých výrobců, často velmi pochybných analytických parametrů, včetně nejistoty, kdy má být test považován za pozitivní, a v jakém množství a čase lidské tělo začne protilátky vytvářet. Jsou k dispozici soupravy na stanovení protilátek jak klasickou ELISOU tak na automatických analyzátoch.

Základním testem je však přímý průkaz přítomnosti viru. Diagnostika Covid-19 je v současnosti většinou založena na detekci viru SARS-Cov-2 metodou reverzní transkripce a kvantitativní polymerázové reakce (RT-qPCR). Nutnost rychlého testování pacientů přijímaných v akutních stavech k hospitalizacím, ochrana zdravotnického personálu a požadavek na populační testování ve velkém objemu přináší řadu logistických problémů v preanalytické fázi a vyžaduje optimalizaci všech kroků vlastního diagnostického postupu. Nedílnou součástí je zajištění rychlého a správného způsobu předávání výsledků. Možnost optimalizace je komplikována růzností jednotlivých prvků diagnostického postupu na jednotlivých pracovištích a vyčerpáním laboratorních pracovníků.

Nutná je např. standardizace odběrových postupů a spotřebního materiálu a zajištění jejich kompatibility se stávajícími systémy evidence a primárního zpracování vzorků. Klíčová je minimalizace preanalytických chyb, způsobených prováděním odběrů a transportu vzorků v různém prostředí a za různých podmínek. Zcela zásadní je pak snížení rizika infekce pracovníků odběrových a mikrobiologických laboratoří při manipulaci s potenciálně infekčním materiálem. Následně způsoby izolace RNA a RT-qPCR musí v případě nutnosti umožnit rychlé manuální stanovení přítomnosti viru v jednotlivých vzorcích a současně musí být použitel-

né i ve vysoce automatizovaném procesu zajišťujícím maximalizaci testovací kapacity. Začátek pandemie ukázal, že je též nutné hledat cesty ke snížení závislosti provozu na komerčních kitech z důvodu jejich možného nedostatku v kritických situacích.

Z těchto východisek jsme vycházeli při zavádění metodiky pro diagnostiku Covid-19 v Laboratoři klinické mikrobiologie Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky VFN a 1. LF UK (ULBLD-LKM).

Ve spolupráci s výzkumným pracovištěm Kliniky dětského a dorostového lékařství VFN a 1. LF UK se nám podařilo v rámci VFN sjednotit odběr klinického materiálu do vlastního odběrového média (viRNAtrap). Výhodou tohoto postupu je okamžitá desinfekce odebraného materiálu a stabilizace virové RNA ihned po vložení odběrové špetičky do roztoku. RNA je v roztoku stabilní při pokojové teplotě po dobu několika dnů. Bylo vyzkoušeno, že je pro tento způsob odběru možné použít jakékoliv typy odběrových špetiček, které jsou dostupné v současnosti ve VFN. Odběrový roztok je kompatibilní s různými typy manuální i automatizované izolace nukleových kyselin. V našem prostředí se nám osvědčil zejména v kombinaci s izolací RNA pomocí magnetických kuliček, kdy RNA izolujeme za méně než 10 minut ve vysokém výtěžku a čistotě.

Ověřili jsme si, že je izolovaná RNA analyzovatelná nejen různými postupy RT-qPCR, ale i metodami sekvenování nové generace. To nám otevírá cestu nejen k paralelní analýze různých typů virových nákaz, ale i k analýze mikrobiomu a reakce potenciálně infikovaných tkání hostitele na úrovni genové exprese.

Musíme se naučit s koronavirem SARS-Cov-2 žít, neboť tento vir tady je a nejspíše ještě chvíli bude, musíme dbát rozumných protiepidemiologických opatření a nezapomínat, že také musíme testovat jiná onemocnění včetně infekčních.

*Prof. MUDr. Stanislav Kmoč
Prof. MUDr. Tomáš Zima*