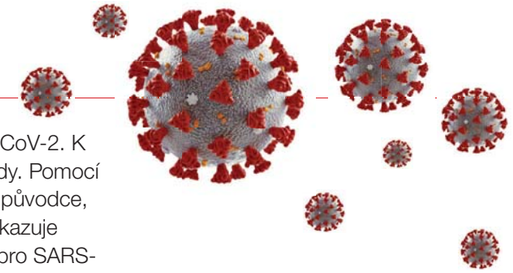
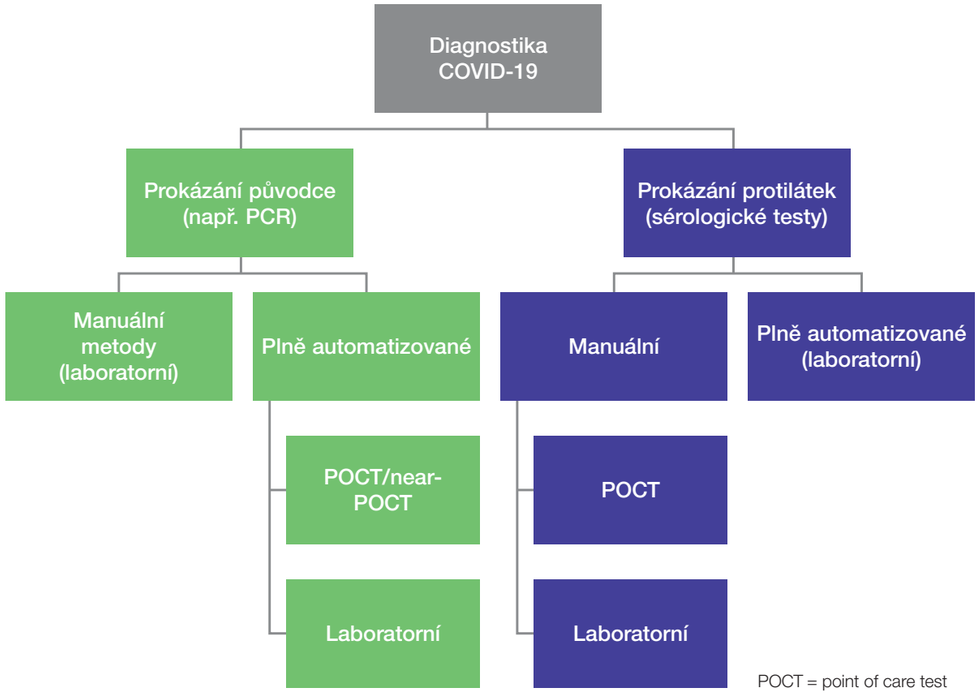
Metody a produkty se souvislostí k onemocnění COVID-19

SARSTEDT

Prokazování různými metodami



Aktuální onemocnění COVID-19 je způsobeno koronavirem SARS-CoV-2. K prokázání akutní, příp. prodělané infekce, se používají různé metody. Pomocí různých molekulárně biologických metod, např. PCR, lze prokázat původce, tedy virus. Testovat lze ale také reakci imunitního systému, což prokazuje původce nepřímo. Uvádí se tak přítomnost protilátek specifických pro SARS-CoV-2.



POCT = point of care test

Tyto různé testovací metody se používají v jednotlivých fázích onemocnění. V rané fázi je možné pouze přímé prokázání původce, protože protilátky se tvoří a jsou prokazatelné teprve v pozdějších fázích onemocnění (viz následující graf). Prokázání původce poskytuje informaci o tom, zda je testovaná osoba virem infikována a může nakazit jiné osoby.

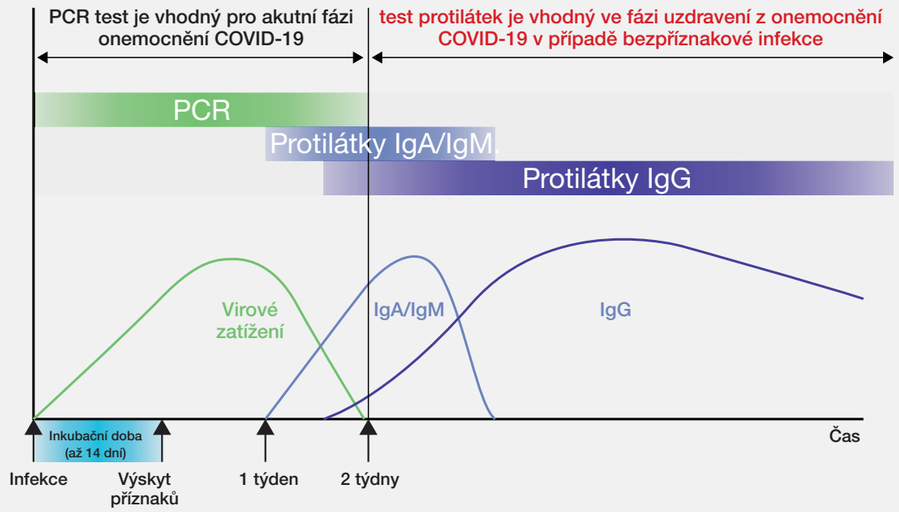
S dalším postupem pandemie ale roste také důležitost prokázání protilátek, a to například kvůli určení neodhalených případů infekcí probíhajících s mírnými příznaky, či dokonce bez příznaků.
Aktuálně ovšem ještě nejsou k dispozici žádné spolehlivé údaje o tom, zda prokázání protilátek znamená spolehlivou imunitu a jak dlouho potom tato imunita přetrvává. Přesto lze předpokládat, že počty testů na protilátky budou v nadcházejících týdnech přibývat.

Přímé prokázání infekce SARS-CoV-2 pomocí molekulárně biologických metod (např. PCR)

U přímého prokázání původce se pomocí molekulárně biologických testů detekuje dědičná informace viru. Ve většině případů se pro odběr vzorku z nosu a nosohltanu (nazofaryngeální výtěr) používá odběrový tampon. Pozitivní výsledek v tomto případě znamená akutní infekci. Jelikož se jedná o úplně nový typ viru, bylo možné na začátku propuknutí nemoci využívat pouze jednotlivé protokoly z referenčních laboratoří. S postupem pandemie se stále více objevují také komerční testy, zkracující dobu stanovení výsledku testu.

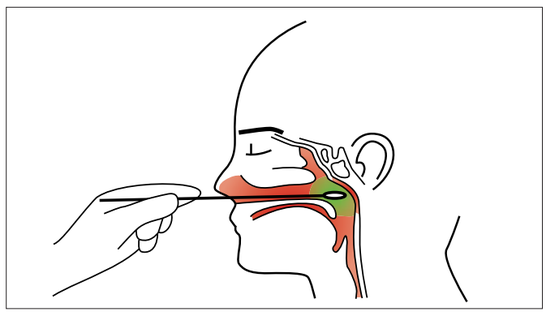
Nepřímé prokázání infekce SARS-CoV-2 pomocí sérologického zjištění protilátek (ELISA)

Prokázání protilátek (sérologie) může poskytnout informaci o tom, zda je onemocnění již v pokročilé fázi, příp. zda testovaná osoba toto onemocnění již prodělala. Důležitou roli přitom hraje tvorba protilátek v jednotlivých časových fázích. Zatímco protilátky akutní fáze (IgA a IgM) obvykle po prodělané infekci již v krvi přítomny nejsou, lze protilátky známé jako imunoglobuliny typu G (IgG), které se tvoří v pozdější fázi onemocnění a po jeho odeznění, prokázat ještě dlouhou dobu po uzdravení. Na základě toho lze pacienty rychle(ji) a bezpečně(ji) propouštět z karantény.



Přímé prokázání původce pomocí molekulárně biologických metod

Pro přímé prokázání původce se detekuje dědičná informace viru (v tomto případě RNA). K tomuto účelu se většinou odebírají vzorky v podobě stěrů z nosu a nosohltanu (nazofaryngeální výtěr), používají se ale také tekuté vzorky (výplach nosohltanu, hlen, výplach plic). Kromě toho je možné analyzovat vzorky moči a stolice. Vzorky se příp. balí a odesílají v souladu s předpisem P650. Analýza probíhá buď manuálně pomocí různých sad, nebo plně automaticky.



Nazofaringeální výtěr

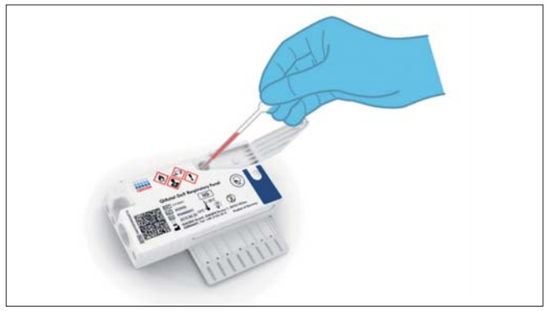
Manuální prokázání původce

Při manuální analýze se nejprve ze vzorku izoluje RNA a poté se zkoumá pomocí PCR. Pro oba kroky nabízejí různí výrobci speciální sady. Jako příklad lze uvést QIAGEN, Macherey-Nagel, Thermo Fisher, PerkinElmer a Siemens Healthineers.

Automatické prokázání původce

Automatické testy se řádově liší. Kartušové testy, jak je nabízí např. Bosch nebo QIAGEN, jsou většinou POCT nebo near-POCT, mají však menší počet zpracovaných vzorků (v jednom okamžiku jeden vzorek). Automatizované laboratorní testy mohou naproti tomu analyzovat současně několik vzorků, čili jsou schopné jich za stejný čas zpracovat více. Jako příklad zde lze uvést výrobce Roche, Hologic a Becton Dickinson.

V souvislosti s dynamickým nárůstem tohoto tržního prostředí je na stránkách WHO odkaz na přehled aktuálních testovacích sad, který se stále rozšiřuje.
www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance



QIAstat-Dx® Respiratory Panel od výrobce QIAGEN

cobas® 8800 od výrobce Roche

Vivalytic od výrobce Bosch

Přímé prokázání původce – odběr vzorků

Spotřební materiál SARSTEDT	Druh vzorku		
	Výtěr	Tekuté vzorky (výplach nosohltanu, hlen, výplach plic)	Stolice, moč
Odběrová zkumavka	Suché odběrové tampony, primární zkumavky nepreparované nebo s roztokem chloridu sodného	Víceúčelové odběrové zkumavky, zkumavky 50 ml	Zkumavky na stolici, pohárky na moč, zkumavky na moč Urin-Monovette®
Materiál pro odeslání	Přímá analýza (POCT): bez přepravy Odesílání (laboratorní test): sekundární zkumavky, transportní sáčky, zasílací boxy podle povahy vzorku a způsobu odeslání (pozemní, letecká doprava)		

Přímé prokázání původce – analytika

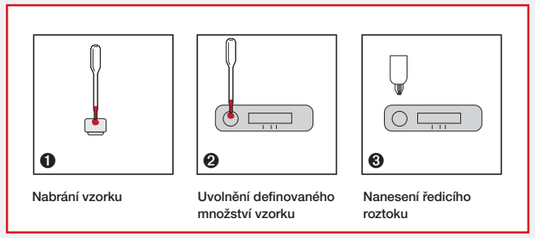
Spotřební materiál SARSTEDT
Zkumavky, šroubovací mikrozkumavky, reagenční zkumavky, zkumavky PCR, pipetovací špičky s filtrem, transferpipety

Prokázání protilátek proti SARS-CoV-2 pomocí POCT

K dispozici jsou rychlotesty různých výrobců. I zde je na stránkách WHO odkaz na přehled:
www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance

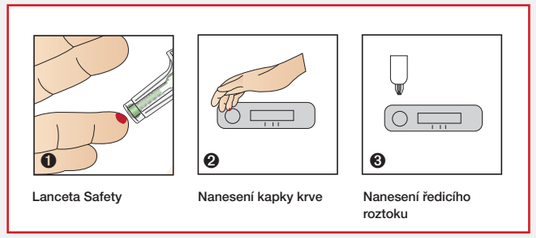
Pro rychlotesty je možné použít venózní sérum, příp. vzorky plazmy či plazmy kapilární nebo plné krve (lithium heparin a EDTA).
Tyto rychlotesty poskytují kvalitní výsledek již po 10 minutách.
POC rychlotest na protilátky představuje doplněk ke stávajícím testům. Přitom poskytuje přímo na místě za velmi krátkou dobu informaci o tom, zda u testovaných osob již došlo k tvorbě detekovatelných protilátek a zda již onemocnění COVID-19 měly nebo neměly a to bez laboratoře a náročných analýz. Další výhodou je souvislost s nastavením karantény. Navzdory vyléčenému koronavirovému onemocnění totiž mohou být v nose a nosohltanu nadále prokazatelně přítomny fragmenty tohoto viru, takže standardní PCR test vychází jako pozitivní. Zde má rychlotest podstatnou výhodu, neboť protilátky tvořené během akutní fáze (IgM) již po prodělané infekci nebývají v krvi přítomny. Zůstávají tam jen protilátky IgG tvořené v pozdější fázi onemocnění a po jeho odeznění.

Před použitím rychlotestů k masovému screeningu onemocnění COVID-19 je třeba posoudit klinickou přesnost. Nejnovější zprávy z evropských zemí naznačují, že současné rychlotesty určené pro COVID-19 nejsou v jednotlivých případech analyticky spolehlivé. Stejně jako u všech ostatních metod testování je výběr a použití těchto POCT testů na příslušné zdravotnické autoritě.



Nabrání vzorku | Uvolnění definovaného množství vzorku | Nanesení ředicího roztoku

Vývojový diagram průběhu POCT rychlotestu pro venózní vzorky.



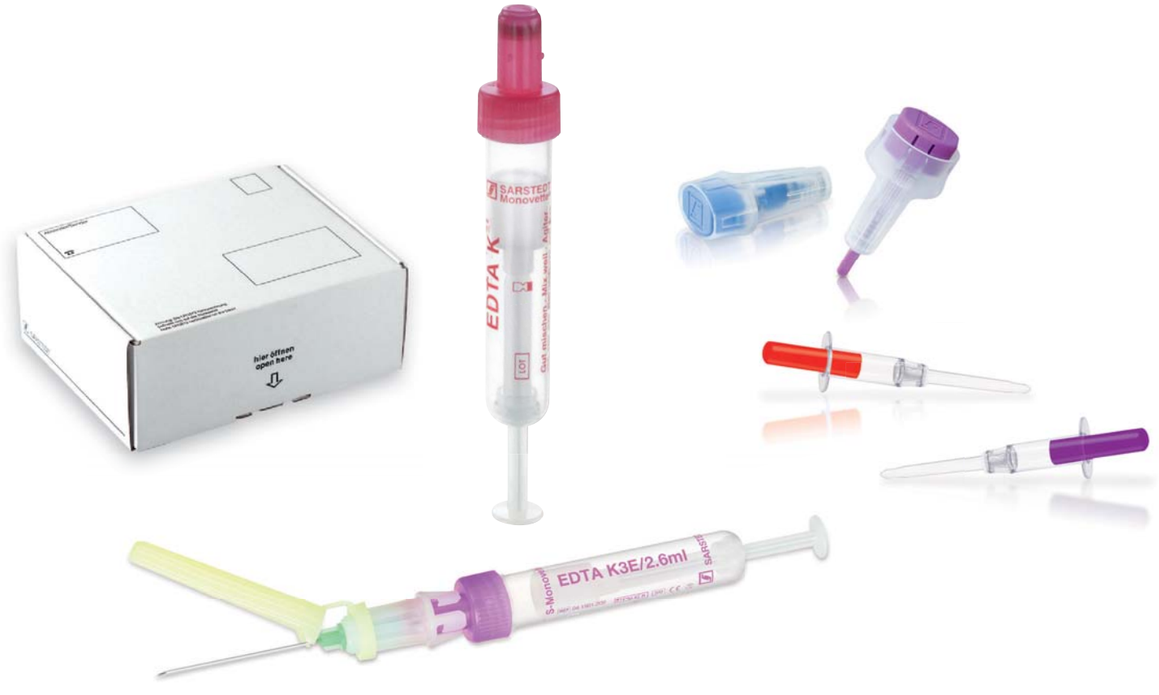
Lanceta Safety | Nanesení kapky krve | Nanesení ředicího roztoku

Vývojový diagram průběhu POCT rychlotestu pro vzorky kapilární plné krve.

Doporučené podmínky pro odesílání vzorků k testům na COVID-19*

Materiál vzorků	Teplota skladování do odeslání	Přibližná doba trvání přepravy	Doporučená teplota během přepravy	Kategorie přepravy
Sérum/plazma	2–8 °C	≤ 5 dní	2–8 °C	„Biologická látka, kategorie B“ - UN 3373/ Pokyn k balení P650
Plná krev		> 5 dní	-70 °C (suchý led)	

* Guidance for laboratories shipping specimens to WHO reference laboratories that provide confirmatory testing for COVID-19 virus.



Prokázání protilátek metodou POCT – odběr vzorků

Zpracování vzorků: necentralizovaně, a to manuálně pomocí POCT/rychlotestů

Spotřební materiál SARSTEDT	Druh vzorku	
	Venózní velké objemy > 5 ml*	Kapilární
Odběrová zkumavka/ preparace	SÉRUM: Zkumavka S-Monovette® sérum/sérum-gel PLAZMA: Zkumavka S-Monovette® lithium heparin, EDTA	Plná krev heparin/EDTA: Zkumavka Minivette® POCT heparin/ EDTA, End-to-End kapilára EDTA → Objem: viz příbalový leták výrobce testovací sady
Punkční systémy	Jehly S-Monovette®, jehly (Safety)-Multifly®	Bezpečnostní lanceta, inciční lanceta
Pro zaškrcení přívodu krve	Jednorázové papírové škrtidlo, škrtidlo pro opakované použití u jednoho pacienta	–
Materiál pro odeslání	Sekundární zkumavky, transportní sáčky, transportní boxy podle povahy vzorku a způsobu odeslání (pozemní, letecká doprava)	Přímá analýza, bez přepravy
Zmražení*	Filtr Seraplas, transferpipety, odběrové mikrozkumavky	–

* Zbylý materiál (sérum, plazma) se zamrazí pro pozdější analýzy.

SARSTEDT

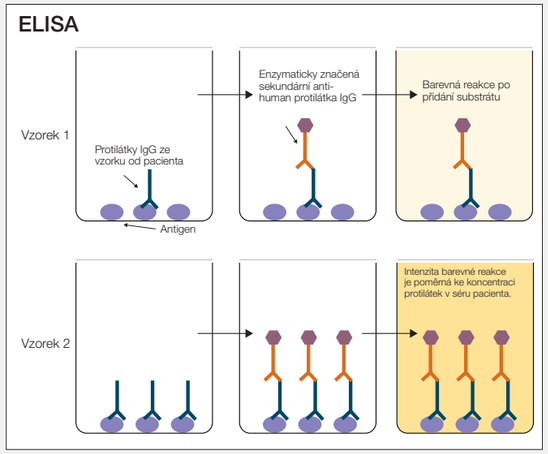
SARSTEDT

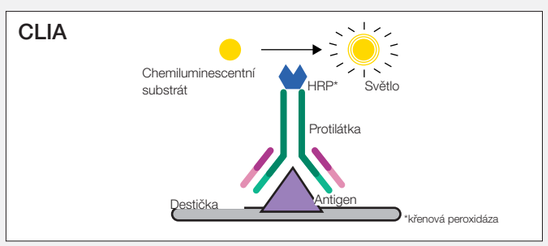
Automatické prokázání protilátek proti SARS-CoV-2

Pro plně automatické stanovení přítomnosti protilátek SARS-CoV-2 lze volit vedle čínského výrobce YHLO jako jednoho z prvních poskytovatelů také EUROIMMUN. Oba výrobci nabízejí reagenční sady vyvinuté pro svou vlastní přístrojovou platformu. YHLO sází na chemiluminescentní imunotesty (CLIA), EUROIMMUN AG s hlavním sídlem v německém Lübecku používá technologii detekování enzymaticky značenými sekundárními protilátkami (ELISA). Pro oba druhy testů lze jako materiál vzorku použít sérum a plazmu. Výsledky analýz jsou semikvantitativní (EUROIMMUN) a kvantitativní (YHLO). Plně automatické stanovení přítomnosti protilátek proti SARS-CoV-2 ve velkoplošném testování se využívá především k získání epidemiologických dat. Kromě toho bude screening osob, které přišly do kontaktu s koronavirem SARS-CoV-2, hrát roli i při výzkumu možné imunity. Všichni známí výrobci přístrojů/testů se horečně snaží vyvinout sérologický test k prokázání protilátek nebo ho již nabídli, jako např. Abbott, BeckmanCoulter, Diasorin, Ortho Clinical Diagnostics, Roche Dianostics, Siemens Healthineers.

EUROLabWorkstation ELISA

iFlash 1800 Chemiluminescence Immunoassay Analyzer





Jak u **testu s enzymaticky značenými sekundárními protilátkami** (ELISA), tak u **chemiluminescentního imunotestu** (CLIA) se jedná o imunotesty. Jako imunotest se souhrnně označuje řada metod, jejichž společným základním principem je detekce, a tím i prokázání analytu na základě navázání antigenu na určitou protilátku.

Test s enzymaticky značenými sekundárními protilátkami (ELISA)
označuje metodu prokazování (assay) na bázi protilátek na základě enzymatické barevné reakce.

Chemiluminescentní imunotest (CLIA)
označuje metodu prokazování (assay) na bázi protilátek, která kombinuje chemiluminescentní techniku s imunochemickými reakcemi.
Chemiluminescence (CL) popisuje emisi elektromagnetického záření, které chemickou reakcí „vyrábí“ světlo.

Prokázání protilátek – odběr vzorků

Zpracování vzorků: automatizovaně v centrální laboratoři

Spotřební materiál SARSTEDT	Druh vzorku Venózní velké objemy > 5 ml*
Odběrová zkumavka/ preparace	SÉRUM: Zkumavka S-Monovette® sérum/sérum-gel PLAZMA: Zkumavka S-Monovette® lithium heparin, EDTA
Sekundární příslušenství	Transferpipety, pipetovací špičky
Punkční systémy	Jehly S-Monovette®, jehly (Safety)-Multifly®
Pro zaškrcení přívodu krve	Jednorázové papírové škrtidlo, škrtidlo pro opakované použití u jednoho pacienta
Materiál pro odeslání	Sekundární zkumavky,transportní sáčky, transportní boxy podle povahy vzorku a způsobu odeslání (pozemní, letecká doprava)
Zamražení*	Filtr Seraplas, transferpipety, odběrové mikrozkumavky

Prokázání protilátek – analytika

Spotřební materiál SARSTEDT
Destičky ELISA

* Zbylý materiál (sérum, plazma) se zamrazí pro pozdější analýzy.
** Informujte se prosím na místním trhu, kteří výrobci sad přicházejí v úvahu.

Pokud pacienti s COVID-19 vyžadují intenzivní péči

Onemocnění COVID-19 se projevuje jako infekce dýchacích cest, přičemž hlavními symptomy jsou horečka a kašel. U 81 % pacientů je průběh mírný, u 14 % těžký a u 5 % pacientů kritický. K příjmu na JIP zpravidla vede dušnost (dyspnoe) se zvýšenou dechovou frekvencí (> 30/min), výrazný je nedostatek kyslíku v arteriální krvi (hypoxemie). Zobrazovací metody potom již často ukazují záněty plicní tkáně.

Možným scénářem průběhu je vývoj akutního selhání plic (ARDS) či, doposud spíše vzácně, sekundární bakteriální infekce se septickým šokem. Dalšími popisovanými komplikacemi jsou kromě toho poruchy srdečního rytmu, poškození myokardu a výskyt akutního selhání ledvin. Doba od prvního projevu příznaků až po příjem na JIP činí zpravidla 10 dní.

Při soustavném sledování pacienta se portfólio produktů SARSTEDT uplatní především v těchto oblastech:

1. zkumavka na krevní plyny Blutgas-Monovette® k zajištění adekvátního zásobování kyslíkem (oxygenace)

2. adaptér na kultivaci krve při podezření na sekundární infekce.

ROCHE Diagnostics cobas b 221

SIEMENS Healthineers RapidLab 1200

Monitorování při hospitalizaci – odběr vzorků

Intenzivní medicína

Spotřební materiál SARSTEDT	Druh vzorku	
	Venózní velké objemy > 5 ml*	Kapilární
Důležité odběrové zkumavky	Zkumavky Monovette na krevní plyny	Kapiláry na krevní plyny
Odběry pro krevní kultivaci	Adaptéry na krevní kultivaci	–
Odběrová zkumavka/ preparace	SÉRUM: Zkumavka S-Monovette® sérum/sérum-gel PLAZMA: Zkumavka S-Monovette® lithium heparin, EDTA	–
Punkční systémy	Spojení na přístupech: Multiadaptér, multiadaptér Luer-Lock Přímá punkce: Jehly S-Monovette®, jehly (Safety)-Multifly®, membránové adaptéry	Bezpečnostní lancety
Materiál pro odeslání	Přeprava v rámci objektu: transportní sáčky, kufříky pro přepravu v rámci objektu	Přímá analýza, bez přepravy
Zamražení*	Filtr Seraplas, transferpipety, odběrové mikrozkumavky	–

* Zbylý materiál (sérum, plazma) se zamrazí pro pozdější analýzy.

Preanalytika a postanalytika onemocnění COVID-19

Analytické přístroje (např. EUROLabWorkstation Elisa) vyžadují ke zprocesování vzorků zpravidla otevřené zkumavky se vzorky ve specifickém stojánku.

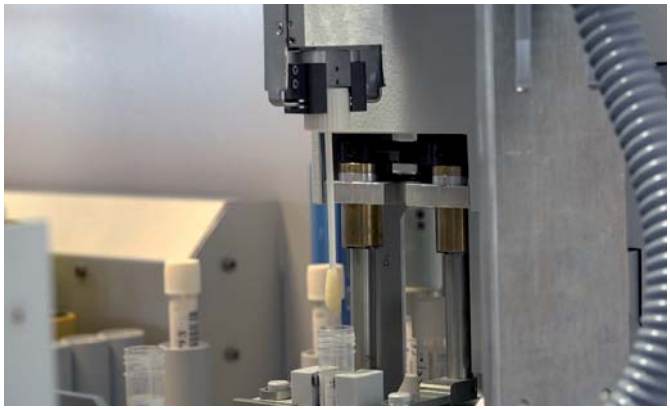
Automatizované otevírání zkumavek se vzorky před analýzou snižuje riziko infekce pro laboranty a pomáhá předcházet poškození z opakovaného namáhání (RSI – repetitive strain injury). Zejména otevírání zkumavek se vzorky s přichyceným tamponem (zkumavky eSwab™) vyžaduje odpovídající technická řešení. Preanalytické a postanalytické automatizační systémy DC RC 900 Flex a DC 1200 společnosti SARSTEDT tato řešení nabízejí.

Odkaz na video:
https://youtu.be/yiCdT8kFazs

Nebo pomocí QR kódu:

DC 1200

DC RC 900 Flex



DC RC 900 Flex (eSwab™)

Tato publikace může obsahovat informace o produktech, které příp. nemusejí být dostupné v dané zemi
Technické změny vyhrazeny

SARSTEDT spol. s r.o.
Pod Pekárnami 338/12
190 00 Praha 9
Tel: +420 281 021 491
Fax: +420 281 021 495
info.cz@sarstedt.com
www.sarstedt.com

Všechny zde uvedené přístroje,
produkty a metody
jsou jen ilustrativní a nejsou vyčerpávající.

SARSTEDT

56_856_0000_1100