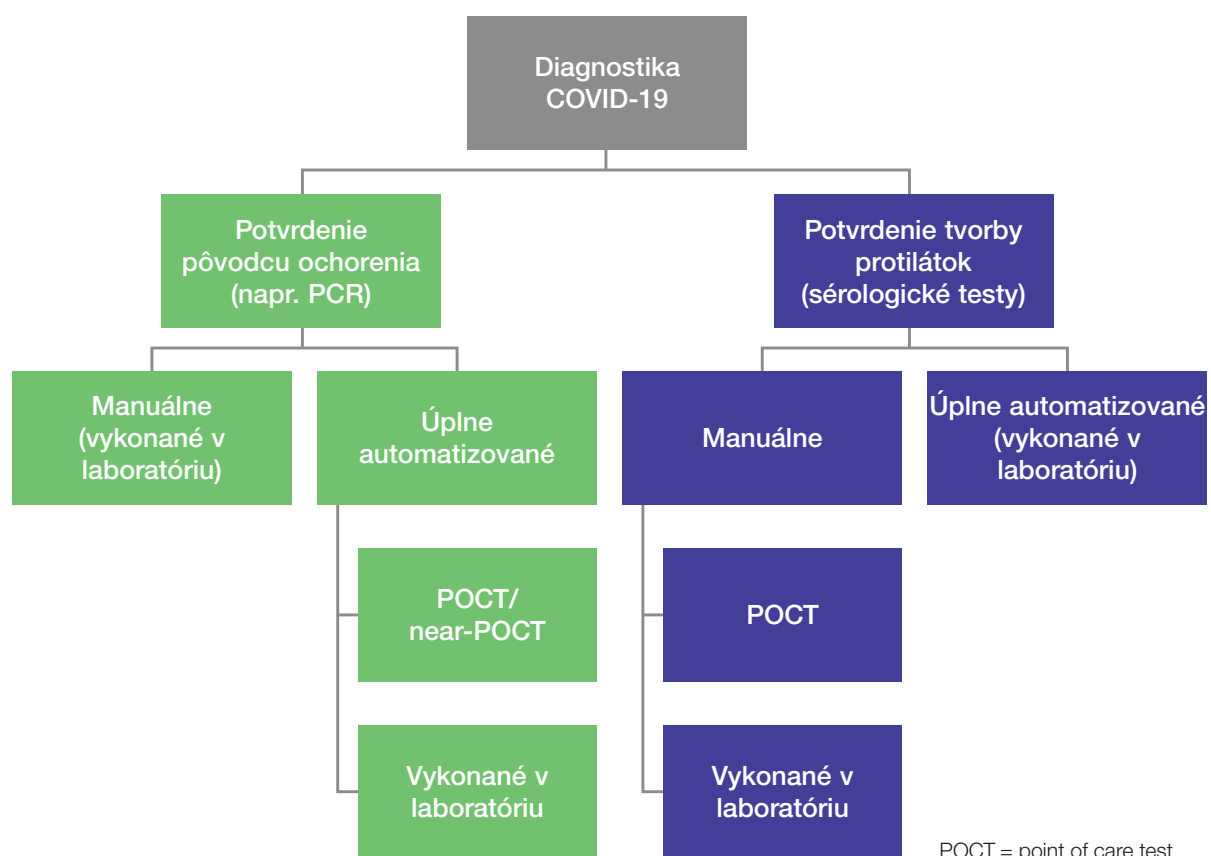
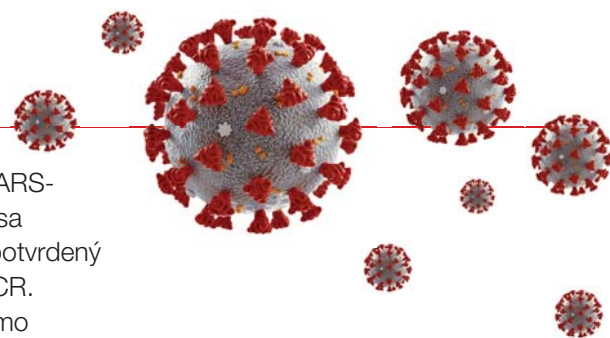


# Metódy a produkty pre COVID-19



## Potvrdenie použitím rôznych metód

Aktuálne vypuknutie ochorenia COVID-19 spôsobuje koronavírus SARS-CoV-2. Na potvrdenie výskytu akútnych, príp. prekonaných infekcií sa používajú rôzne metódy. Pôvodca ochorenia, teda vírus, môže byť potvrdený priamo pomocou rôznych molekulárnobiologických metód, napr. PCR. Môže byť tiež vykonaný test reakcie imunitného systému, čo nepriamo potvrdí pôvodcu ochorenia. Toto sa dosiahne potvrdením tvorby protilátok špecifických pre SARS-CoV-2.



Tieto rozličné testovacie metódy sa používajú v rôznych fázach ochorenia. Vo včasnej fáze je možné potvrdiť pôvodcu ochorenia iba priamo, pretože protilátky sa vytvoria až v neskoršej fáze ochorenia a je možné ich následne preukázať (pozri nižšie uvedený obrázok). Potvrdenie pôvodcu ochorenia objasní, či je testovaná osoba infikovaná vírusom a môže nakaziť aj iné osoby. Taktiež sa potvrdenie tvorby protilátok stáva dôležitejším počas postupujúceho priebehu pandémie, aby sa

napríklad stanovil aj počet štatisticky nezistených infekcií s miernym priebehom až po infekcie bez príznakov. Momentálne síce ešte neboli nájdené žiadne údaje o tom, či je možné potvrdenie tvorby protilátok stotožniť s dobre vybudovanou imunitou a ako dlho by mohol imunitný systém ešte odolávať. Predsa je však potrebné vychádzať z toho, že vykonávanie testov na tvorbu protilátok v nasledujúcich týždňoch porastie.

## Priame potvrdenie vzniku infekcie SARS-CoV-2 použitím molekulárnobiologických metód (napr. PCR)

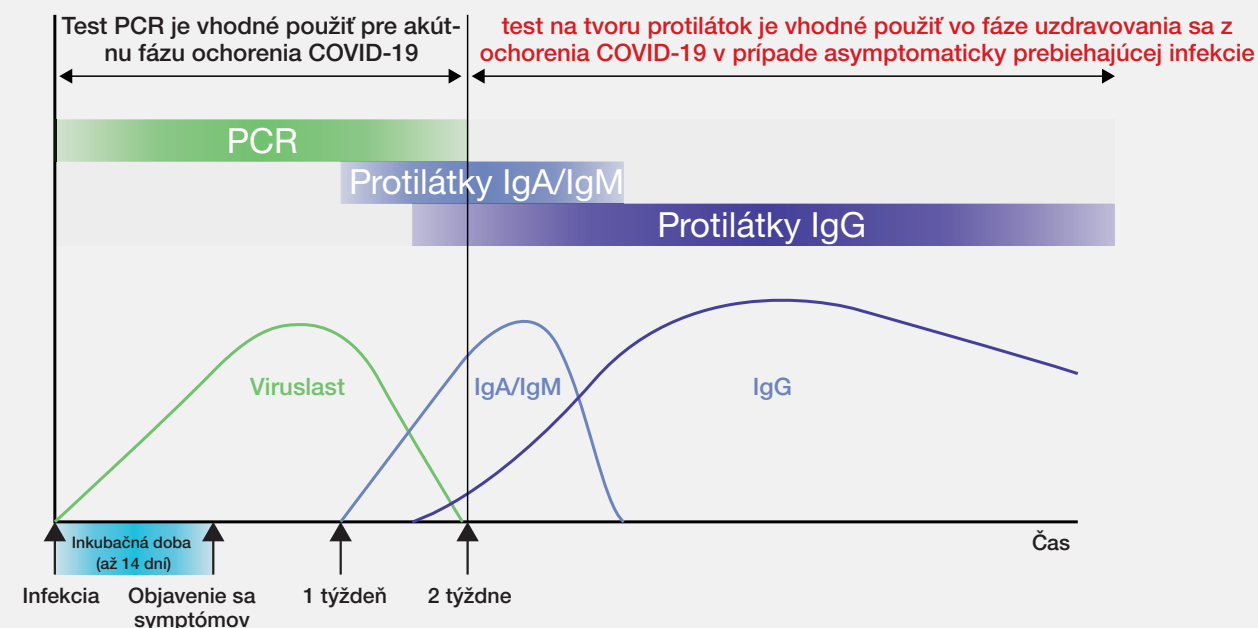
Pri priamom potvrdení pôvodcu ochorenia sa za pomoci molekulárnobiologických testov detekuje genetická informácia vírusu. Vo väčšine prípadov sa na to používa výterová tyčinka slúžiaca na ober vzoriek z nosa a hrdla (nazofaryngeálny výter). Pozitívne potvrdenie v tomto prípade poukazuje na vznik akútnej infekcie. Vzhľadom na

to, že vírus bol odhalený iba nedávno, bolo na začiatku vypuknutia nákazy možné siahnuť iba po jednotlivých protokoloch vypracovaných referenčnými laboratóriami. S postupujúcim priebehom pandémie je k dispozícii čoraz viac komerčných testov s cieľom dosiahnuť ďalšie skrátenie doby čakania na výsledky testov.

## Nepriame potvrdenie vzniku infekcie SARS-CoV-2 použitím sérologického potvrdenia tvorby protilátok (ELISA)

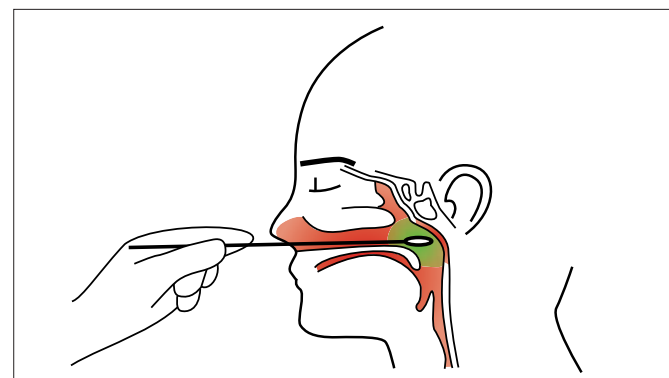
Potvrdením tvorby protilátok (sérológia) je možné zistiť, či je ochorenie už v pokročilejšom štádiu, príp. či ho otestovaná osoba už prekonala. Dôležitú úlohu pri tom zohráva tvorba protilátok v rôznych časoch. Zatiaľ čo protilátky vytvorené počas akútnej fázy (IgA & IgM) sa po prekonaní infekcie už zvyčajne v krvi nevyskytujú,

prítomnosť protilátok imunoglobulínu G (IgG) vznikajúcich počas neskoršej fázy a fázy rekonvalescencie je možné preukázať aj dávno po prekonaní ochorenia. Preto môžu byť ľudia rýchlo (rýchlejšie) a bezpečne(-jšie) prepustení z karantény.

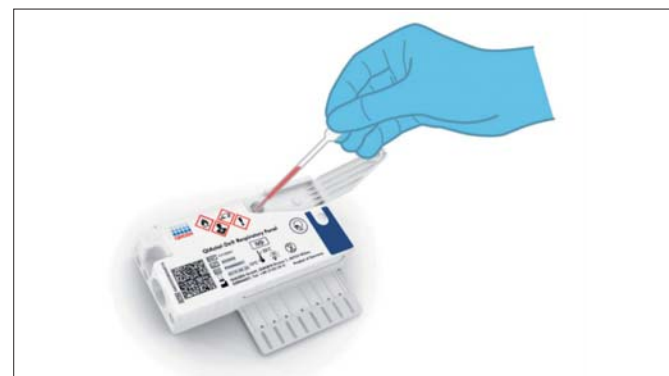


## Priame potvrdenie pôvodcu ochorenia pomocou molekulárno-biologických metód

Pre priame potvrdenie pôvodcu ochorenia sa detekuje genetická informácia vírusu (v tomto prípade RNA). Preto sa ako vzorkový materiál najčastejšie používa výter z nosa a hrdla (nazofaryngeálny výter), ale používajú sa aj tekuté vzorky (výplach z hltana, spútum, výplach z pľúc). Okrem toho je možné vykonať analýzu vzoriek moču a stolice. Vzorky sa príp. zabalia a odošlú v súlade s predpisom P650. Analýza môže byť vykonaná manuálne pomocou rôznych súprav alebo aj úplne automatizovane.



Nazofaryngeálny výter



QIAstat-Dx® respiratory panel od QIAGEN

### Manuálne potvrdenie pôvodcu ochorenia

Pri manuálnej analýze sa najskôr zo vzorky izoluje RNA a následne sa vyšetrí použitím metódy PCR. Pre oba kroky sú v ponuke k dispozícii súpravy od rôznych výrobcov. Konkrétne tu môžeme uviesť mená niektorých z nich: QIAGEN, Macherey-Nagel, Thermo Fisher, PerkinElmer a Siemens Healthineers.

### Automatizované potvrdenie pôvodcu ochorenia

Automatizované testy sú dostupné v rôznych veľkostiach. Testy na báze kartuší, ako napr. od firiem Bosch alebo QIADEN, sú väčšinou typu POCT alebo near-POCT, ale poskytujú nízky objem prenesených vzoriek (naraz jedna vzorka). Naproti tomu automatizované laboratórne testy môžu analyzovať niekoľko vzoriek súčasne a tým poskytujú vysoký objem prenesených vzoriek. Menovite ide napríklad o výrobcov Roche, Hologic a Becton Dickinson.

Na základe aktuálne vysokej dynamiky tohto trhu vytvorila WHO zoznam aktuálnych testovacích súprav, ktorý neustále narastá.

[www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance](http://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance)



cobas® 8800 od firmy Roche



Vivalytic od firmy Bosch



## Priame potvrdenie pôvodcu ochorenia – odber vzoriek

Spotrebný materiál SARSTEDT	Druh vzorky		
	Výter	Tekuté vzorky (výplach z hltana, spútum, výplach z pľúc)	Stolica, moč
Nádoba na vzorky	Suché výterové tampóny, skúmavka na primárnu vzorku, nepreparovaná alebo so solným roztokom	Viacúčelové nádoby, 50 ml skúmavky	Skúmavky na vzorky stolice, nádoby na vzorky moču, Monovette® na moč
Transportný materiál	Priame meranie (POCT): bez transportu Transport (laboratórny test): sekundárne nádoby na vzorky, transportné vrecko, transportný box podľa materiálu vzorky a typu transportu (po zemi, vzduchom)		

## Priame potvrdenie pôvodcu ochorenia – analytika

### Spotrebný materiál SARSTEDT

Skúmavky, mikroskúmavky so závitom, reagenčné skúmavky, skúmavky PCR, pipetové špičky s filtrom, transfer-pipety



## Potvrdenie protilátok POCT špecifických pre SARS-CoV-2.

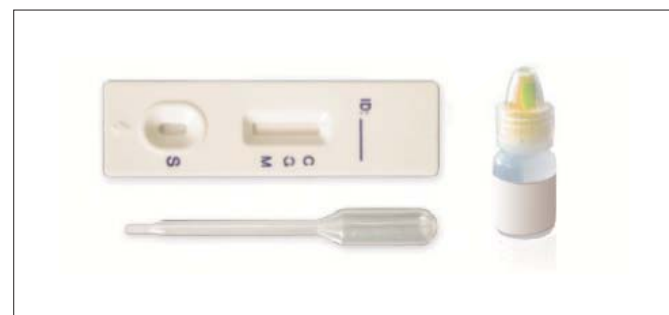
K dispozícii sú rýchlotesty od rôznych výrobcov. WHO vytvorila odkaz s ich zoznamom:

[www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance](http://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance)

Na rýchlotesty je možné použiť venózne sérum, prípadne vzorky plazmy, ako aj kapilárne vzorky plazmy, alebo plnej krvi (lítium-heparín a EDTA).

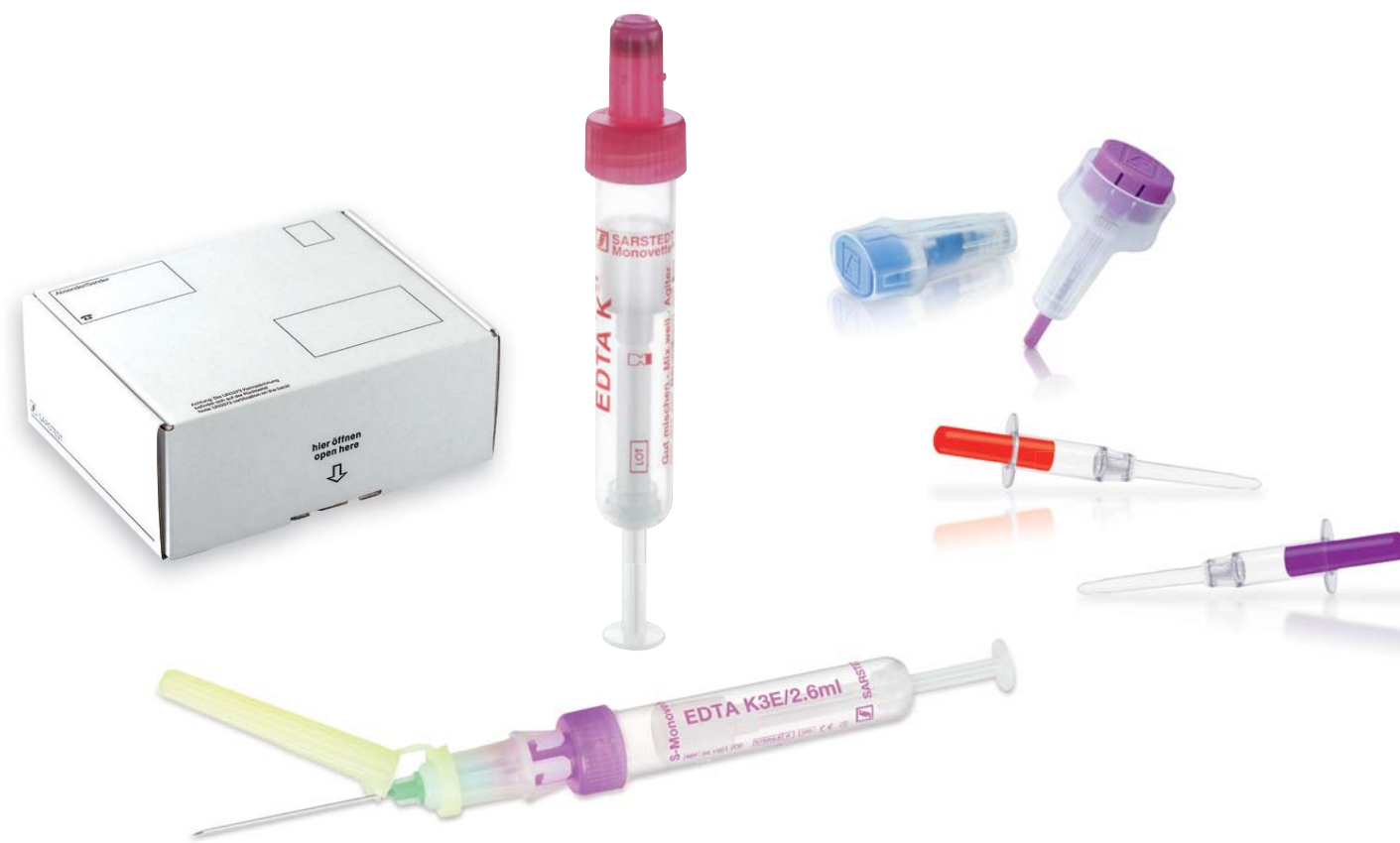
Prostredníctvom týchto rýchlotestov získate kvalitný výsledok už v priebehu 10 minút.

Test POC pre tvorbu protilátok je doplnením už existujúcich testov. Prítom sa priamo na mieste v tom



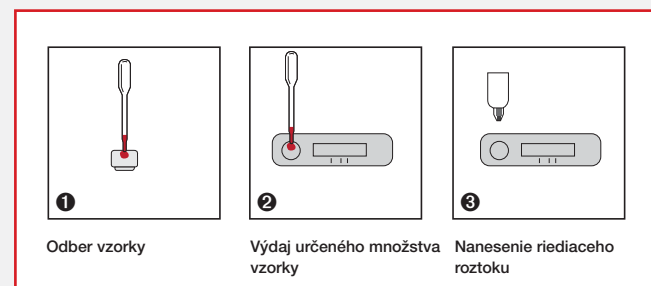
najkratšom možnom čase ukáže, či u dotknutých osôb už boli vytvorené detekovateľné protilátky a trpia ochorením COVID-19 alebo nie bez toho, aby navštívili laboratórium a nákladné vyšetrenia. Ďalšia výhoda sa ukazuje v súvislosti s pravidlami karantény. Keďže napriek vyliečenému ochoreniu spôsobeného koronavírusom je možné v priestore nosa a hrdla aj naďalej potvrdiť prítomnosť fragmentov vírusu, štandardný test PCR by dosiahol pozitívny výsledok. V tomto prípade poskytuje rýchlotest podstatnú výhodu, pretože protilátky vytvorené počas akútnej fázy (IgM) sa po prekonaní infekcie už zvyčajne v krvi nevyskytujú, výskyt protilátok (IgG) vznikajúcich počas neskoršej fázy a fázy rekonvalescencie je však stále preukázateľný.

Klinická presnosť rýchlotestov by mala byť vyhodnotená ešte predtým, ako sa použije pre masový skrining ochorenia COVID-19. Neskoršie správy vypracované európskymi krajinami upozorňujú na to, že súčasné rýchlotesty na COVID-19 nezabezpečujú v jednotlivých prípadoch správne výsledky analýz. Tak ako u všetkých ostatných testovacích metód, prislúcha výber a použitie tohto testu POCT príslušným zodpovedným osobám z lekárskeho odvetvia.

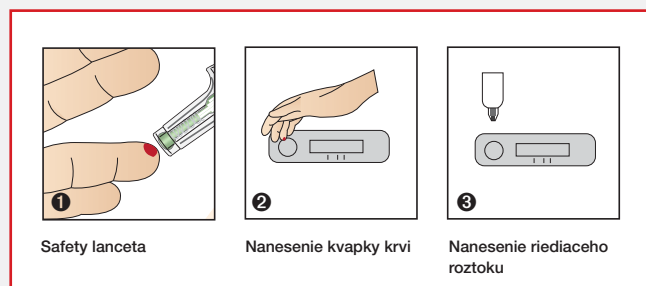


## Potvrdenie protilátok POCT – odber vzorky

Spracovanie vzorky: decentrálné, manuálne pomocou POCT/rýchlotestov



Rýchlotest POCT so schémou procesu pre vzorky získané zo žil.



Rýchlotest POCT so schémou procesu pre vzorky plnej kapilárnej krvi.

## Odporúčané podmienky pre transport materiálu vzoriek na testovanie COVID-19\*

Materiál vzoriek	Teplota skladovania až po transport	Približná doba transportu	Odporúčaná teplota počas transportu	Kategória transportu
Sérum/plazma	2 – 8 °C	≤ 5 dní	2 – 8 °C	„Biologická látka, kategória B“ - UN 3373/ príbalový leták P650
Plná krv		> 5 dní	-70 °C (suchý ľad)	

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

Spotrebný materiál SARSTEDT	Druh vzorky	
	Venózna veľké objemy > 5 ml*	Kapilána
<b>Nádobka na vzorku/preparácia</b>	SÉRUM: S-Monovette® Sérum / Sérum gél PLAZMA: S-Monovette® Lítium-heparín, EDTA	plná krv, Heparín/EDTA: Minivette® POCT, Heparín/EDTA, end-to-end kapilára EDTA → Objem: pozri Príbalový leták výrobcu testovacej súpravy
<b>Punkčné systémy</b>	S-Monovette® ihla, (Safety)-Multifly® ihla	Safety lanceta, incízna lanceta
<b>Venostáza</b>	Jednorazové papierové škrtidlo, škrtidlo použiteľné u jedného pacienta	–
<b>Transportný materiál</b>	Sekundárne nádoby na vzorky, transportné vrečko, transportný box podľa materiálu vzorky a typu transportu (po zemi, vzduchom)	Priame meranie, bez transportu
<b>Zamrazenie*</b>	Filter Seraplas, transfer-pipety, mikroskúmavky na vzorky	–

\* Zvyškový materiál (sérum, plazma) sa hlboko zamrazí za účelom vykonania neskorších vyšetrení.

## Automatizované potvrdenie tvorby protilátok špecifických pre SARS-CoV-2

Úplným automatickým určením protilátok SARS-CoV-2 sa okrem čínskeho výrobcu YHLO, ktorý bol jedným z prvých poskytovateľov, zaoberá aj výrobca EUROIMMUN. Oba ponúkajú súpravu činidiel vyvinutú pre vlastnú platformu zariadení. YHLO pritom stavia na chemiluminiscencii imunologických analýz (CLIA), firma EUROIMMUN AG s hlavným sídlom v Lübecku v Nemecku používa technológiu enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Na vykonanie oboch analýz sa môže použiť sérum a plazma ako materiál vzorky. Výsledky meraní sú vydané semikvantitatívne (EUROIMMUN) a kvantitatívne (YHLO).

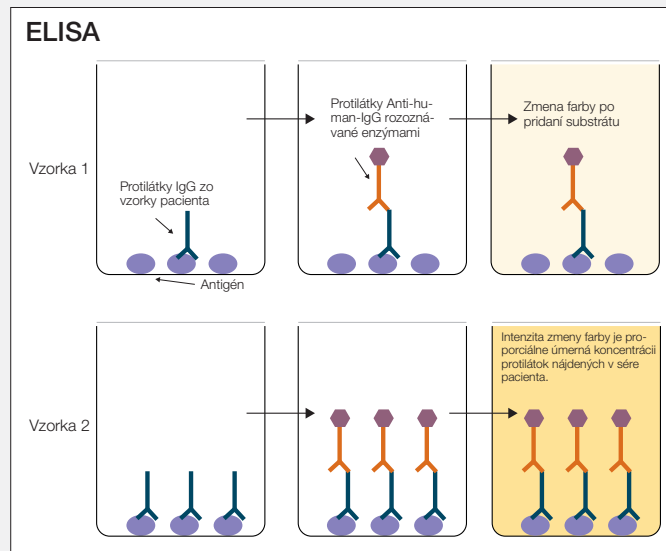
Plne automatické určenie protilátok proti SARS-CoV-2 počas veľkoplášneho testovania sa používa najmä pri zhromažďovaní epidemiologických údajov. Okrem toho zohrávajú svoju úlohu skríningy osôb, ktoré prišli do kontaktu s vírusom SARS-CoV-2, aj v prípade otázok týkajúcich sa prípadnej imunity. Všetci známi výrobcovia prístrojov/analytických systémov sú pod veľkým tlakom pri vývoji sérologického analytického systému na preukazovanie prítomnosti protilátok alebo sa na túto vlnu už naladili, ako napr. Abbott, BeckmanCoulter, Diasorin, Ortho Clinical Diagnostics, Roche Diagnostics, Siemens Healthineers.



EUROLabWorkstation ELISA



iFlash 1800 Chemiluminescence Immunoassay Analyzer



Tak u analytického postupu **enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)**, ako aj **chemiluminescence immunoassay (CLIA)** ide o imunologickú analýzu. Pojmom imunologická analýza sa označuje množstvo metód, ktorých spoločným základným princípom je rozpoznanie a tým preukázanie prítomnosti analytov naviazaním antigénu na protilátku.

**Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)** označuje postup potvrdzujúci prítomnosť protilátok (assay), ktorý je založený na farebnej reakcii enzýmov.

**Chemiluminescence immunoassay (CLIA)** označuje postup potvrdzujúci prítomnosť protilátok (assay), ktorý je založený na technike chemiluminiscencie v kombinácii s imunochemickými reakciami. Chemiluminiscencia (CL) opisuje emisie elektromagnetického žiarenia, ktoré „vytvára“ svetlo na základe chemickej reakcie.



## Potvrdenie protilátok – odber vzorky

Spracovanie vzorky: automatizované v centrálnom laboratóriu

Spotrebný materiál SARSTEDT	Druh vzorky
Nádoba na vzorku/preparácia	Venózna veľké objemy > 5 ml* SÉRUM: S-Monovette® Sérum / Sérum gél PLAZMA: S-Monovette® Lítium-heparín, EDTA
Sekundárne príslušenstvo	Transfer-pipety, pipetové špičky
Punkčné systémy	S-Monovette® ihla, (Safety)-Multifly® ihla
Venostáza	Jednorazové papierové škrtidlo, škrtidlo použiteľné u jedného pacienta
Transportný materiál	Sekundárne nádoby na vzorky, transportné vrečko, transportný box podľa materiálu vzorky a typu transportu (po zemi, vzduchom)
Zamrazenie*	Filter Seraplas, transfer-pipety, mikroskúmavky na vzorky

## Potvrdenie protilátok – analytika

Spotrebný materiál SARSTEDT

ELISA doštičky

\* Zvyškový materiál (sérum, plazma) sa hlboko zamrazí za účelom vykonania neskorších vyšetrení.

\*\* Informujte sa, prosím, na miestnom trhu, akí výrobcovia súprav prichádzajú od úvahy.

## Ak sú pacienti COVID-19 povinne hospitalizovaný v nemocnici

Ochorenie COVID-19 sa prejavuje ako infekcia dýchacích ciest s hlavnými prejavujúcimi sa príznakmi horúčkou a kašľom. Až 81 % pacientov má mierny priebeh ochorenia, u 14 % je priebeh ťažký a 5 % pacientov je v kritickom stave. K prijatiu na jednotke intenzívnej starostlivosti vedú spravidla dýchacie ťažkosti (dyspnoe) so zvýšenou frekvenciou dýchania (> 30/min), pričom hlavným dôvodom je nedostatok kyslíka v krvi v cievach (hypoxémia). Často sa následne na snímkach ukáže zápal pľúcneho tkaniva.

Prípadnými formami priebehu sú rozvoj akútneho zlyhania pľúc, ako aj doteraz skôr zriedkavej, bakteriálnej koinfekcie spojenej so septickým šokom. Ďalšie opísané komplikácie sú okrem toho poruchy rytmu, myokardiálne poškodenie, ako aj objavenie sa akútneho zlyhania obličiek. Doba od začiatku prejavovania sa symptómov až po prijatie na jednotku intenzívnej starostlivosti predstavuje cca 10 dní.

Pri priebežnom monitorovaní týchto pacientov sú pre portfólio produktov SARSTEDT dôležité najmä nasledujúce oblasti použitia:

1. Monovette® na krvné plyny na zaistenie adekvátneho zásobovania kyslíkom (oxygenácia) a
2. adaptér na krvné kultúry pri podozrení na výskyt koinfekcií.



ROCHE Diagnostics cobas b 221



SIEMENS Healthineers RapidLab 1200



## Monitorovanie v nemocnici – odber vzorky

### Intenzívna medicína

Spotrebný materiál SARSTEDT	Druh vzorky	
	Venózna veľké objemy > 5 ml*	Kapilárna
<b>Dôležité nádoby na vzorky</b>	Monovette na krvné plyny	Kapiláry na krvné plyny
<b>Odber krvných kultúr</b>	Adaptér na krvné kultúry	–
<b>Nádoba na vzorku/preparácia</b>	SÉRUM: S-Monovette® Sérum / Sérum gél PLAZMA: S-Monovette® Lítium-heparín, EDTA	–
<b>Punkčné systémy</b>	Pripojenie na prístupy: Multi-adaptér, Multi-adaptér s Luer-Lock Priama punkcia: S-Monovette® ihla, (Safety)-Multifly® ihla, membránový adaptér	Safety lancety
<b>Transportný materiál</b>	Interná preprava: Prepravné vrečko, interný prepravný kufrík	Priame meranie, bez transportu
<b>Zamrazenie*</b>	Filter Seraplas, transfer-pipety, mikroskúmavky na vzorky	–

\* Zvyškový materiál (sérum, plazma) sa hlboko zamrazí za účelom vykonania neskorších vyšetrení.



## Preanalytická a postanalytická fáza COVID-19

Analyzátory (napr. EUROLabWorkstation ELISA) spravidla potrebujú otvorené skúmavky so vzorkami v špeciálnom stojane do prístroja na analýzy vzoriek.

Automatické otváranie skúmaviek so vzorkami pred samotnou analýzou znižuje riziko infikovania sa laboratórneho personálu a pomáha predchádzať vzniku ochorenia z opakovaného prepätia (RSI – repetitive strain injury). Najmä otváranie skúmaviek so vzorkami pomocou závesného tampónu (skúmavky eSwab™) si vyžaduje príslušné technické riešenia. Automatizované systémy preanalytickej a postanalytickej fázy DC RC 900 Flex a DC 1200 od firmy SARSTEDT ponúkajú obe riešenia.

Odkaz na video:

<https://youtu.be/yiCdT8kFazs>

Alebo cez QR kód:



DC 1200



DC RC 900 Flex



DC RC 900 Flex (eSwab™)