

Anti-SARS-CoV-2 QuantiVac ELISA (IgG)

ELISA souprava umožňuje kvantitativní stanovení lidských IgG protilátek proti SARS-CoV-2 v séru, plazmě nebo vysušených krevních kapkách. Představuje tak doplněk přímé detekce patogenu a slouží jak ke sběru epidemiologických dat, tak i ke sledování účinku vakcinace S1/RBD vakcínami.



Jak již bylo dříve popsáno, patří SARS-CoV-2 do rodu betakoronavirů, přenáší se kapénkovou infekcí, je obsažen i ve stolici a moči. Inkubační doba je podle posledních dostupných informací 3-7, maximálně 14 dní. Pro diagnostiku akutního onemocnění je vhodná PCR metoda ve vzorku z výtěru horních cest dýchacích nebo z traktu dolních cest dýchacích (BAL). Sérologické stanovení se používá pro sledování průběhu infekce a měly by být použity párové vzorky, v případě stanovení IgG protilátek 1. vzorek po více než 10 dnech od počátku infekce a další po 3 – 4 týdnech od počátku onemocnění. V soupravě je jako antigen navázaný na reagenčních jamkách použita doména S1 spike proteinu SARS-CoV-2 exprimovaného v lidské buněčné linii HEK 293. Kalibrační křivka je tvořena šesti kalibrátory v rozmezí 1 – 120 RU/ml, kde kalibrátor 10 RU/ml je cut-off kontrola. Zde je třeba poznamenat, že lineární kore-

lace výsledků relativních jednotek (RU/ml) s WHO standardem (First WHO International Standard) umožňuje konverzi relativních jednotek na mezinárodní jednotky (IU/ml) vztažených k neutralizačním jednotkám nebo k BAU/ml (BAU-binding antibody units). Hodnoty IU/ml a BAU/ml jsou číselně identické a relativní jednotky jsou násobeny faktorem 3,2. Specifita testu SARS-CoV-2 QuantiVac ELISA (IgG) je 99,8 %, senzitivita ve vzorcích odebraných po 10. dni je 90,3 % a linearita je v rozmezí 6 – 120 RU/ml. Vzhledem k velmi nízké homologii proteinu S1 u koronavirů jsou zkřížené reakce mezi ostatními koronaviry prakticky vyloučeny. Velmi dobrá korelace je také mezi SARS-CoV-2 ELISA (IgG) a virus neutralizačními testy (cPass SARS-CoV-2 Neutralization Antibody Detection Kit from GenScript). Většina pacientů v rekonvalescentní fázi po onemocnění

COVID-19 vykazuje reaktivitu T-buněk na SARS-CoV-2 a to by v budoucnu mohlo pozitivně ovlivňovat dlouhodobou imunitu po infekci betakoronaviry. Sledování tvorby a trvání přítomnosti IgG protilátek rovněž přispěje ke sledování účinnosti vakcinace a pomůže definovat nutnost přeočkování. V současné době se připravuje celoevropská konsenzuální studie na stanovení protektivní hladiny protilátek a výsledek bude samozřejmě zohledněn i do QuantiVac ELISA (IgG) soupravy. Ředění vzorků a zpracování se provádí plně automatizovanými systémy a postup je validován pro ELISA systémy Analyzer I (EUROIMMUN), Analyzer I-2P (EUROIMMUN), DSX (Dyner Technologies Inc.) a EUROLabWorkstation (EUROIMMUN). Kat. číslo soupravy: EI 2606-9601-10 G

vkrauz@dynex.cz

Odběrový systém DBS

Představujeme Vám unikátní odběrový systém DBS (Dried Blood Spots), který celosvětově jako jediný umožňuje certifikovaný (CE) samoodběr vzorku kapilární krve a následné vyšetření protilátek IgG proti SARS-CoV-2 pomocí ELISA souprav společnosti EUROIMMUN ze suché kapky krve.



Souprava obsahuje vše potřebné pro provedení odběru i odeslání/transport vzorku do laboratoře (membrána, dezinfekční polštářky, lancety, speciální obálka, silikagel). Souprava je vhodná pro samoodběr v pohodlí domova, testování v zaměstnání, domovy seniorů, veškeré provozy bez přístupu ke klasickým odběrům žilní krve, pacienty, u kterých je klasický odběr venózní krve stresující či velmi komplikovaný z důvodu nekvalitních a špatně dostupných žil. Jak systém funguje v praxi:

1. Samotný odběr kapilární krve (z bříčka prstu)
2. Vzorek krve je přenesen na speciální membránu a po zaschnutí odeslán v přiložené obálce do laboratoře
3. Zde jsou z membrány pomocí speciální děrovačky (dostupná automatická i manuální verze) vyseknuty „terčičky suché

krve“, které jsou umístěny do jamek mikrotitrační destičky, kde po přidání pufru a následně 60minutové inkubaci při 37 °C dochází k extrakci vzorku

4. Vzorek je poté zcela standardně zpracován s využitím souprav EUROIMMUN a výsledek je odeslán pacientovi/ošetřujícímu lékaři
5. Systém DBS je certifikován pro použití se všemi soupravami EUROIMMUN, které slouží pro detekci protilátek proti SARS-CoV-2 ve třídě IgG:
 - a. EI 2606-9601-10 G (souprava QuantiVac pro získání kvantitativního výsledku IgG proti S1 v mezinárodních jednotkách, vhodné i pro vyšetření hladiny protilátek po podstoupené vakcinaci)

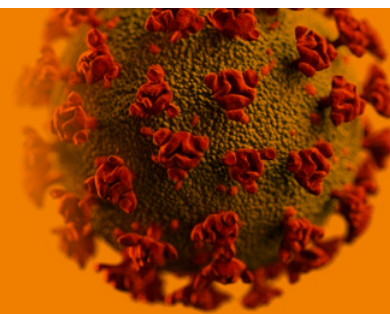
- b. EI 2606-9601 G (semikvantitativní vyhodnocení IgG proti S1)
- c. EI 2606-9601-2 G (semikvantitativní vyhodnocení IgG proti NCP)

Při použití vzorků kapilární krve (získány pomocí systému DBS) jsou hodnoty senzitivity a specifity výše uvedených ELISA testů společnosti EUROIMMUN srovnatelné jako v případě použití vzorků venózní krve. Systém DBS naleznete v našem portfoliu pod objednávacím kódem ZV 9701-0101. Pro více informací o kompletní soupravě DBS i jejich alternativách (k dostání rovněž ve verzi samostatných membrán či nebrandovaných boxů) prosím kontaktujte naše obchodní zástupce.

jvazac@dynex.cz

Drama “Covidový hlad” - zveme Vás do zákulisí

Toto představení jste již viděli, lépe řečeno, byli jste jeho součástí. Ano, tušíte správně, nezveme Vás do divadla, ale chceme se s Vámi podělit o naši část příběhu s nedostatkem laboratorního vybavení z důvodu koronavirové pandemie.



Na konci zimy 2019/2020 jsme začali zaznamenávat výpadky v dodávkách některých produktů. Jednalo se zejména o vybrané špičky a izolační kity. Nevěnovali jsme tomu však větší pozornost, protože se v té době nový koronavirus vyskytoval pouze v Asii a nás se nedotýkal. Většina objednávek byla pokryta z našich lokálních zásob a náš objednávkový systém automaticky doobjednával zboží dle standardního nastavení bez navyšování zásob na horší časy. S příchodem koronaviru do Evropy a později do ČR si už všichni uvědomili závažnost situace. Z důvodu enormní poptávky a nedostatku zboží zavedlo několik našich dodavatelů systém tzv. alokací neboli přidělení. Komise, tvořená vrcholným managementem korporací, rozhodovaly na základě počtu obyvatel v jednotlivých zemích a jejich aktuální závažnosti epidemické situace.

Největší výzvou byla zejména nedostupnost izolačních kitů pro automaty. To málo, které jsme každý týden obdrželi, jsme férově rozdělili mezi Vás, naše zákazníky. Některé kity nám nebyly alokovány vůbec, nic se nedalo předvídat a o tom, jaké zboží přijde, jsme se dozvěděli prakticky až když bylo naložené v naší dodávce. Vzhledem k tomu, že se jednalo o uzavřené platformy, nebylo možné na přístrojích zpracovávat ani kity od jiného výrobce. Největší nedostatek výrobci uváděli zejména u laboratorních plastů. Docházelo tak k situacím, kdy byl například dostupný vlastní izolační kit s chemií pro izolaci, ale chyběly plastové kryty magnetických tyčí izolátoru (Rod Covers). Za zmínku stojí i destičky potřebné do jednoho z automatických izolátorů, které byly dočasně nedostupné, na rozdíl od podobných destiček od jiného dodavatele plastů, které však měly jiný tvar. Zalarmovali jsme naše konstruktéry z oddělení

výroby (přístroje DYNABLOT a další) a společně jsme připravili stojánek na míru pro použití alternativních destiček, který jsme vytiskli na 3D tiskárně a pro jehož použití jsme izolátor přeprogramovali. Izolační kity tak bylo možné použít ihned a nečekat na dodání originálního plastu.

Výrobci apelovali, abychom dál objednávali, přestože nejsou schopni objednávky plnit, aby měli přehled o velikosti poptávky v jednotlivých zemích. Proto jsme o totéž žádali my Vás a zároveň jsme začali objednávky masivně navyšovat nad rámec těch Vašich, abychom umocnili tlak na dodavatele. Postupně přestávaly být dostupné i produkty, které s testováním koronaviru nesouvisely. Důvodem byl fokus výrobců na koronavirové produkty a zajištění co nejvyšší výrobní kapacity, což bylo v některých případech na úkor jiných produktů ze stejné výrobní linky.

Poučení nedostatkem jsme se snažili zásobit, čím to šlo. Ne vše se nakonec ukázalo jako užitečné. Například master mix pro RT-PCR se původně zdál jako dobrá volba z důvodu jeho možného použití pro testování. Nakonec se však ukázalo, že se většina laboratoří vydala cestou hotových diagnostických kitů, jež byly dobře dostupné po celou dobu.

Kombinací izolačních kitů a platform od různých výrobců se podařilo většinu Vašich neurgentnějších požadavků vyřešit. Velmi pomohla i platforma IndiMag původně určená pro veterinární vzorky, avšak pro testování SARS-CoV-2 se osvědčila výborně a její použití v humánní diagnostice se tak pro ni stalo standardem a mnoho laboratoří si ji oblíbilo.

Byli jsme také zapojeni do vývojového projektu našeho partnera na izolační kity. Jednalo se o technologii magnetických

partikulí a cílem bylo přizpůsobit spotřební materiál tak, aby bylo možné izolace provádět na automatu, který je sice určen pro silikamembránové kolony a pracuje tedy na úplně jiném principu, ale je k dispozici v mnoha laboratořích a zatím relativně nevyužitý. Na první pohled to byla velmi zajímavá příležitost, ale chceme se zde s Vámi podělit i o naše neúspěchy, protože „kdo nic nedělá, nic nezkaží“. Přestože chemie byla funkční a měli jsme přesné nákresy potřebných kolonek, nepodařilo se nám projekt uvést do praxe kvůli nedostupnosti laboratorního plastu.

Samozřejmě nemůžeme opomenout pipetovací špičky. DYNEX spolupracuje s několika výrobci plastů pro přístroje z vlastní výroby. Ač špičky působí dojmem prostého výlisku, jejich výroba vyžaduje speciální technologii, která zajistí tvarovou uniformitu a přesnost. Navíc pro testování SARS-CoV-2 se používají špičky s filtrem, sterilní, bez kontaminantů a inhibitorů PCR. Jen několik výrobců na světě má tuto technologii v rámci čistých prostor a jejich kapacita nebyla na takovou poptávku připravena. Pravděpodobnost, že by na trh vstoupil nový výrobce, byla malá. Proto jsme pro uspokojení Vaší poptávky jednali i s konkurenčními firmami v ČR i v zahraničí. Slibované dodací doby se v průběhu času protahovaly, například velká objednávka čínských špiček nakonec ani nedorazila. Přesto nám tyto spolupráce pomohly vyřešit většinu Vašich neurgentnějších požadavků.

Ač je za běžných okolností středem naší pozornosti hlavně prodej, většinu času se náš prodejní tým věnoval spíše ověřování dostupnosti produktů a hledání dostupných alternativ na trhu s cílem uspokojit Vaše potřeby. Jinými slovy, z prodejců se stali „pátrači“ a „hasiči“. Ale hlavně jsme si společně s Vámi prošli zkouškou z improvizace v duchu citátu Charlese Darwina: „Není to ten nejsilnější, kdo přežije, ani ten nejinteligentnější, ale ten, kdo se dokáže přizpůsobit.“ A to vše i přes to, že „každá kulka netrefila“. Děkujeme Vám za spolupráci, trpělivost a loajalitu. Stále pro Vás budeme sledovat aktuality a nové trendy koronavirové diagnostiky. Veškeré tyto příspěvky uveřejňujeme na našem webu (např. informace o prominutí DPH na produkty pro testování SARS-CoV-2). Připravujeme pro Vás také nové produkty pro detekci mutací koronaviru. Srdečně Vás zveme na náš web www.dynex.cz a k jeho přidání do záložek ve Vašem prohlížeči.

PS: zmíněný master mix a další produkty máme stále na skladě a rádi Vám je nabídneme za výprodejovou cenu (vyžádejte si nabídku u našich obchodních zástupců).

 tvydareny@dynex.cz



Souprava pro průkaz anti-SARS-CoV-2 buněčné imunity

Po sérii diagnostik umožňujících přímou detekci viru SARS-CoV-2 PCR, diagnostik pro stanovení specifických protilátek nebo detekci antigenu, přidává společnost EUROIMMUN do svého portfolia další soupravu pro diagnostiku přítomnosti paměťových anti-SARS-CoV-2 T-lymfocytů, tedy přítomnost buněčné imunity.



Chybějícím článkem v našem povědomí o imunitním stavu pacienta, který již prodělal onemocnění COVID-19, je zjistit, zda i v případě absence protilátek dokáže tento jedinec vzdorovat případné reinfekci díky vytvořeným specifickým T-lymfocytům. Tyto i jedince, kteří onemocnění prodělali zcela asymptomaticky, může pomoci odhalit právě nová SARS-CoV-2 IGRA souprava. Dvoukroková souprava SARS-CoV-2 IGRA sestává z tria stimulačních zkumavek (kat. číslo ET 2606-3003) pro odběr pacientské

krve, kde dojde ke stimulaci T-lymfocytů a tím produkci interferonu-gamma (odtud název IGRA = interferon-gamma release assay). Následnou centrifugací získaná plasma je použita pro kvantitativní stanovení koncentrace interferonu-gamma pomocí Interferon-gamma ELISA soupravy (kat. číslo EQ 6841-9601). Kromě již popsaného využití této dvousoupravy může SARS-CoV-2 IGRA v delším časovém horizontu a v kombinaci se soupravou QuantiVac (kat. číslo EI 2606-9601-10G) skvěle

posloužit pro monitoring efektivity očkování u pacienta - stanovení koncentrace protilátek a detekce vzniku buněčné imunity. Souprava SARS-CoV-2 IGRA i souprava Interferon-gamma ELISA jsou v současnosti ve verzi RUO, nejsou tedy určeny pro diagnostické účely, nicméně na certifikaci se usilovně pracuje a brzy budou obě tyto soupravy představeny již jako CE IVD.

◆ mkucera@dynex.cz

SARS-CoV-2 Antigen ELISA

Vhodnými metodami pro diagnostiku infekcí SARS-CoV-2 jsou detekce virové RNA metodou RT-PCR nebo detekce virového proteinu primárně ve vzorku materiálu z horních (nosohltanových nebo orofaryngeálních výtěrů) nebo dolních cest dýchacího traktu (bronchoalveolární výplachová tekutina, tracheální sekrece, sputum atd.).



SARS-CoV-2 Antigen ELISA je semikvantitativní enzymový imunotest pro in vitro stanovení nukleokapsidového proteinu SARS-CoV-2 v lidském vzorku získaného z horních cest dýchacích (výtěry z nosohltanu).

Mikrotitrační jamky jsou potaženy monoklonální anti-SARS-CoV-2 protilátkou, se kterou reaguje inaktivovaný antigen pacientského vzorku. Následuje inkubace s biotinylovanou protilátkou proti SARS CoV-2 a vizualizace přítomnosti antigenu je provedena přidáním konjugátu a substrátu. Výsledek je odečten na fotometru při vlnové délce 450nm. Intenzita zabarvení

v mikrotitrační jamce je přímo úměrná koncentraci antigenu ve vzorku. Souprava obsahuje všechny potřebné reagentie včetně kalibrátoru a kontrol, které jsou připraveny k použití. Promývací pufr je 10x koncentrovaný. Všechny reagentie jsou barevně odlišné, aby nedošlo k záměně při provádění testu.

Příprava vzorku: lidské vzorky získané z horních cest dýchacích (výtěr z nosohltanu) se ředí 1: 1,5 lyzačním pufrem.

Časová náročnost a postup: inkubace se vzorkem (1 h), 3x promytí, inkubace s biotinem (1 h), 3x promytí, inkubace s konjugátem, streptavidin-křenová peroxidáza (1 h), 3x promytí, inku-

bace se substrátem (15 min.) a zastavení reakce stop roztokem. Výsledná barevná reakce je odečtena na fotometru s následným výpočtem indexu pozitivivity.

Senzitivita soupravy je 93,6% a specificita 100%. Soupravu je možné zpracovat na automatech např. Analyzer I od společnosti EUROIMMUN.

Kat. číslo soupravy EQ 2606-9601.

◆ rkordiovsky@dynex.cz

NADAL antigen test

Pandemie nového koronaviru nám na poli laboratorní diagnostiky přináší mnoho nových výzev. Dalším důležitým článkem v diagnostice nového koronaviru je antigenní testování. Jeho výhodou je zejména snadné použití, a to i v terénu a rychlý výsledek testu.



Pro naše zákazníky jsme do našeho portfolia vybrali rychlý kazetový antigenní test NADAL® COVID-19 Ag, který detekuje virus přímo zjištěním přítomnosti specifických proteinů viru SARS-CoV-2, a to konkrétně N-proteinu. Nukleokapsidový protein (N) je ideální pro detekci viru, protože je ve viru velmi hojný a dostatečně specifický pro SARS-CoV-2. Je to jeden ze 4 nejdůležitějších strukturálních proteinů a podílí se na replikaci, transkripci a obalení virového genomu. Test nevykazuje žádnou zkříženou reaktivitu s lidskými patogenními koronaviry (jako hCoV-229E, -HKU1, -NL63 a -OC43) nebo chřipkovými viry (jako influenza A/B).

NADAL® COVID-19 Ag je imunochromatografický rychlostest pro kvalitativní (ANO/NE) detekci virových antigenů SARS-CoV-2 z přední části nosu a dále standardního odběru z nasopharyngu

a oropharyngu. Připravena je kompletní souprava pro testování přímo na místě (POCT). Test má vysokou specificitu (>99,9%) a vysokou senzitivitu při vysoké virové zátěži: 97,56% (při hodnotách ct: 20 – 30 při PCR vyšetření). Nejlepší výsledky tedy test poskytuje zejména u lidí s příznaky respirační nákazy. Rychlé a spolehlivé výsledky poskytuje do 15 minut.

Souprava obsahuje 20 NADAL® COVID-19 Ag testovacích kazet, 20 sterilních odběrových tampónů, 20 extrakčních zkumavek vč. špiček, migrační pufr rozplněný do jednotlivých balení pro každý test, držák na činidla a návod k použití. Test se skládá při teplotách 2 - 28 °C.

Testování je třeba provádět v místnosti s okolní teplotou alespoň nad 15 stupňů, stejně tak je třeba, aby i reagentie byly dobře

vytemperovány. Předějte se tím výskytu falešně pozitivních výsledků.

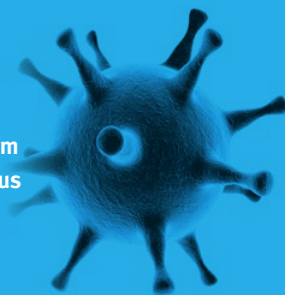
Před několika týdny byla nařízena povinnost antigenního testování pro všechny zaměstnance ve veřejném i soukromém sektoru. Test NADAL® COVID-19 Ag je schválen Ministerstvem zdravotnictví ČR pro samotestování pro tento účel. Pro naše nové zákazníky z mimolaboratorního sektoru jsme připravili instruktážní video na našem Youtube kanálu s provedením testu z přední části nosu. Kat. číslo soupravy je 243103N-20.

Všechny dotazy okolo testovací soupravy Vám zodpoví Mgr. Lenka Polanská, aplikační specialista pro imunologii a infekční sérologii, tel.: 603 263 640.

◆ lpolanska@dynex.cz

Nepřítel koronaviru na 3 písmena

Všimli jste si, že zkratka PCR zaznamenala rozmach i do mluvy neodborné veřejnosti? Ještě před rokem by se na Vás přátelé z nepřírodovědných kruhů pravděpodobně podívali s pozdviženým obočím kdybyste použili toto slovo v konverzaci. Rozšíření PCR ale nezůstalo jen u slovní zásoby. Koronavirus byl nejen důvodem pro zvětšení kapacity PCR vyšetření v již zavedených molekulárně biologických laboratořích, ale uspíšil i vybavení mnoha laboratoří, které o molekulární biologii teprve uvažovaly. Přesto „PCR“ nejsou ta 3 písmena, která máme v nadpisu na mysli.



Termocykléry pro real-time PCR se staly horkým zbožím a poptávka několikanásobně vzrostla. Přestože se v ČR počet PCR testů za den vyšplhal v maximu až na rekordních 47 498 testů, ukázalo se, že základním parametrem pro potřeby testování SARS-CoV-2 není jen vysoká kapacita. S vysokým počtem vzorků se pojí také potřeba laboratoří automatizovat práci, kde to jen jde. Trendem proto začalo být připojování PCR cyklérů k laboratorním informačním systémům. Komunikační rozhraní šetří nejen čas, ale předchází i chybám lidského faktoru. V presu, který laboratoře testující COVID-19 zažívají, je software důležitým partnerem obsluhy laboratorních přístrojů. Proto se v poslední době ukázalo, jak velký vliv má jeho uživatelská přívětivost na oblíbenost cyklérů. Velkou výhodou je například možnost sledovat více kanálů v jednom pohledu. Uspořít čas

a práci je možné také analýzou Vašich vzorků bez nutnosti normalizace s použitím pasivního barviva (nejčastěji referenční barvivo ROX).

A který cyklér toto umožňuje? Zde je odpověď na naši hádanku z nadpisu. Společnost DYNEX minulý jaro navázala spolupráci s nadnárodní firmou Bio-Rad. Real-time PCR termocyklér označovaný **CFX** (ve variantách CFX96 Touch a CFX384 Touch) je považován za „zlatý standard“ současné diagnostiky a je stěžejním produktem našeho nového portfolia. Právě okolnosti loňského roku umožnily dokázat, že je jím právem, protože se stal nejpoužívanějším PCR cyklérem pro testování nemoci COVID-19 vůbec. Popularitu CFX podporuje také jeho všestrannost z důvodu osazení prakticky všemi běžně používanými fluorescenčními kanály. CFX je oblíben i výrobci diagnostických

kitů. Většina z nich totiž své kity validuje přímo pro použití na CFX, což Vám poskytuje nadstandardní garanci spolehlivosti takového systému „přístroj/diagnostický kit“.

Přístroj CFX tedy nyní nabízí nejen léty, ale i koronavirem ověřenou spolehlivost. Na rozdíl od jiných výrobců PCR cyklérů se Bio-Rad ukázal jako stabilní partner, který si dokázal poradit s uspokojením Vaší loňské poptávky. Díky tomu se nám od září do prosince podařilo umístit desítky cyklérů CFX a budeme je i nadále pro Vás držet skladem.

Zajímalo by Vás, jak by si Vaše PCR testy rozuměly s CFX? Domluvte si nezávazně předvedení cykléru CFX na Vašem pracovišti ještě dnes.

♦ tvydareny@dynex.cz



DYNEX
 ČR: Lidická 977, 273 43 Buštěhrad, Česká republika
 Tel.: +420 220 303 600, e-mail: office@dynex.cz
 SR: Nové Kalište 17, 974 04 Banská Bystrica, Slovenská republika
 Tel.: +421 484 155 045, e-mail: dynex@isternet.sk
www.dynex.cz

Informační bulletin firmy DYNEX

DYNEX