

# Zavedenie a automatizácia vyšetrenia SARS-CoV-2 v Spadia Lab, a. s.

Zuzana Dindová<sup>1,2</sup>, Ondřej Kwašný<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>SPADIA LAB, a. s., oddelenie molekulárnobiologických metód, Laboratórium klinickej mikrobiológie, Ostrava, Česká republika

<sup>2</sup>MEDIREX GROUP ACADEMY n. o., Nitra

S útlmom pandémie COVID-19 v Európe sa rutinná detekcia infikovaných SARS-CoV-2 vírusom dostáva do úzadia. Nie je to však tak dávno, keď boli na diagnostické laboratória kladené extrémne nároky v požiadavkách na zvyšovanie ich denného výkonu, pričom v ideálnom prípade bolo potrebné kompletne vybudovať nové alebo významnou mierou upraviť existujúce laboratória a zabezpečiť aspoň čiastočnú mieru automatizácie laboratórných procesov. Keďže na vývoj automatizovaných riešení bol len minimálny čas, bolo nevyhnutné prepojiť výskumné a rutinné klinické pracovné skupiny, ktoré spoločnými silami dokázali vzniknuté požiadavky riešiť v expresnom režime, a to aj v medzinárodnom meradle.

Cieľom projektu bolo zaviesť a realizovať laboratórne analýzy s cieľom detegovať infikovaných SARS-CoV-2 v rutinnom laboratórnom prostredí v režime laboratórií s ultravysokým výkonom. Súčasťou bol výber, optimalizácia a rutinná prevádzka do čo najväčšej miery automatizovaného laboratórneho systému spracovania klinických vzoriek získaných od suspektných jedincov prostredníctvom nazofaryngálneho výteru, prípadne odberu slín. Z praktických dôvodov bol tento projekt realizovaný v spoločnosti SPADIA LAB, a. s., v Českej republike, ktorá bola jedným z najväčších laboratórií poskytujúcich SARS-CoV-2 testovanie v stredoeurópskom regióne.

**Kľúčové slová:** SARS-CoV-2, COVID-19 testovanie, automatizácia

## Implementation and automation of SARS-CoV-2 examination in Spadia Lab a.s.

With the attenuation of the COVID-19 pandemic in Europe, the routine detection of those infected with the SARS-CoV-2 virus is taking a back seat. However, it was not so long ago that extreme demands were placed on diagnostic laboratories to increase their daily throughput. At the same time, ideally, it was necessary to build entirely new or significantly modify existing laboratories and ensure at least a partial degree of automation of laboratory processes. Since there was only minimal time for the development of automated solutions, it was necessary to link research and routine clinical working groups, which together managed to solve the resulting requests in an express mode, even on an international scale.

The project aimed to introduce and implement laboratory analyses to detect infected SARS-CoV-2 in a routine laboratory environment and perform testing in an ultrahigh throughput regime. It included the selection, optimization and routine operation of an automated laboratory system to the greatest extent possible for processing clinical samples obtained from suspected individuals through nasopharyngeal swabs or saliva collection. For practical reasons, this project was implemented in the company SPADIA LAB, a.s. in the Czech Republic, which was one of the largest laboratories providing SARS-CoV-2 testing in the Central European region.

**Keywords:** SARS-CoV-2, COVID-19 testing, automation

NewsLab, 2022; roč. 13 (2): 58 – 61

## Úvod

Diagnostika extrahumánneho genómu vrátane SARS-CoV-2 prebieha v SPADIA LAB, a. s., na oddelení molekulárnobiologických metód (OMBM), ktoré patrí pod Laboratórium klinickej mikrobiológie v Ostrave. Oddelenie ponúka široké spektrum PCR vyšetrení, napr. stanovenie prítomnosti nukleových kyselín (NK) herpetických vírusov, hepatitíd, pôvodcov sexuálne prenosných ochorení, respiračných infekcií a ďalšie.

## Pandémia COVID-19 a začiatok laboratórneho testovania SARS-CoV-2

Pandémia COVID-19 so sebou priniesla bezprecedentnú situáciu na poli rutinného laboratórneho testovania infekč-

ných ochorení, keď bolo potrebné na lokálnej úrovni analyzovať vzorky v populačnej škále. Bolo potrebné v krátkom čase vybrať a do rutinného klinického režimu zaviesť vysokosenzitívne a vysokovýkonné metódy pre laboratórnu diagnostiku SARS-CoV-2 suspektných pacientov, a to na pozadí prebiehajúcej krízy s obmedzenou dostupnosťou mnohých predtým bežne dostupných, v tomto testovaní potrebných laboratórných komponentov od odberových súprav až po výkonné laboratórne automaty. V krátkom slede za sebou sa mnohé vedecké tímy po celom svete zaoberali podobnými otázkami, od výberu typu odberového materiálu cez identifikáciu v rutine použiteľných laboratórných metód detekcie vírusovej nukleovej kyseliny až po možnosti automatizácie laboratórných procesov<sup>(1-3)</sup>.

Pred vypuknutím COVID-19 sme v rámci rutinej diagnostiky mali v našich laboratóriách k dispozícii len jeden automatický izolátor NK, ktorý je v jednom behu schopný izolovať maximálne 16 vzoriek v priebehu asi 1 hodiny. Vzorky sa štandardne spracovávali manuálne pomocou kolónkových izolačných kitov. S rozhodnutím zaviesť vyšetrenie na SARS-CoV-2 a následným získaním povolenia od Štátneho zdravotného ústavu Praha na vyšetrovanie COVID-19 sa situácia na OMBM začala veľmi rýchlo meniť. Prvé vzorky na vyšetrenie COVID-19 prišli do nášho laboratória 16. marca 2020 v počte 10 kusov. I takýto malý počet vzoriek však v tom čase dokázal preveriť našu pripravenosť. Otázok a problémov okolo spracovania vzoriek neustále pribúdalo a celá pozornosť a energia sa musela sústrediť na ich zodpovedanie a riešenie.

Bolo nutné čo najrýchlejšie vymyslieť efektívny spôsob spracovania SARS-CoV-2 suspektných vzoriek, ktorý by umožnil čo najrýchlejšie sa dopracovať k správne výsledku vyšetrenia, teda čo najviac skrátiť čas potrebný na manipuláciu so vzorkami, spracovanie a vyšetrenie vzoriek aj hodnotenie výsledkov vyšetrení. Spolupráca Charles University Innovations Prague, s. r. o. (prof. Ing. Stanislav Kmoč, CSc.), SPADIA LAB, a. s., GENERI BIOTECH, s. r. o., a ZKV Career, s. r. o. (Ing. Michal Pohludka, PhD. MBA LLM.), dala základ vzniku spoločnosti GeneSpector, s. r. o., vďaka ktorej sa na OMBM postupne zavádzal systém umožňujúci vyšetriť vysoké počty vzoriek v pomerne krátkom čase. Zmeny a úpravy procesov vedúce k vysokopriepustnému laboratórnemu riešeniu boli nevyhnutné v každom z krokov od odberu vzoriek až po vydanie výsledku.

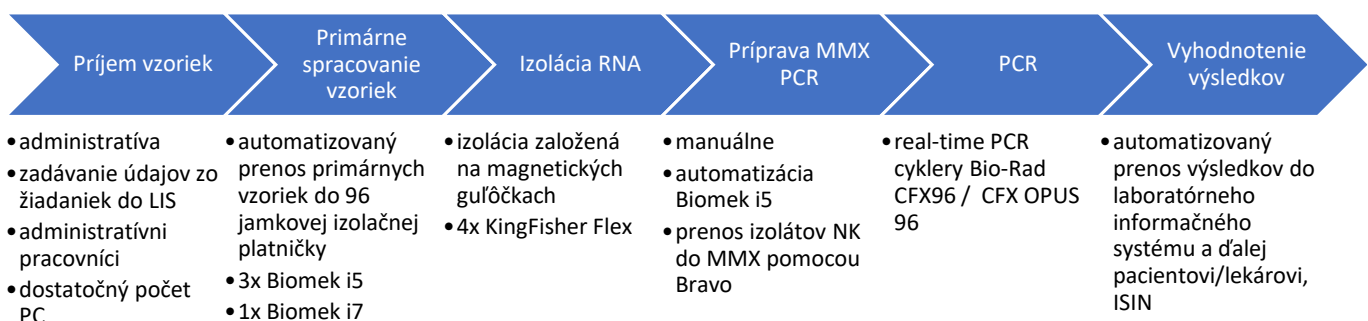
## Automatizácia laboratórných procesov a laboratórne nadväznosti

Prvým krokom bol výber špeciálneho inaktivačného odberového média, čo pomohlo odstrániť problém so skladovaním vzoriek v chladenom režime a s balením vzoriek do trojobalu, čím sa pri manipulácii a vybalovaní vzoriek ušetrilo množstvo času. Zároveň v dôsledku inaktívacie vírusových častíc to umožnilo jednoduchší režim v laboratóriu, keďže nebolo nevyhnutné celý proces prvotnej manipulácie so vzorkami po extrakciu RNA (aliquotovanie, poolovanie) realizovať v prostredí pracovných boxov s laminárnym prúdením v režime BSL-2. Vybrané médium zároveň muselo byť dostupné prakticky v neobmedzenom množstve a ideálne vyrábané lokálne z dôvodu celosvetového akútneho nedostatku a obmedzení týkajúcich sa exportu všetkých komponentov pou-

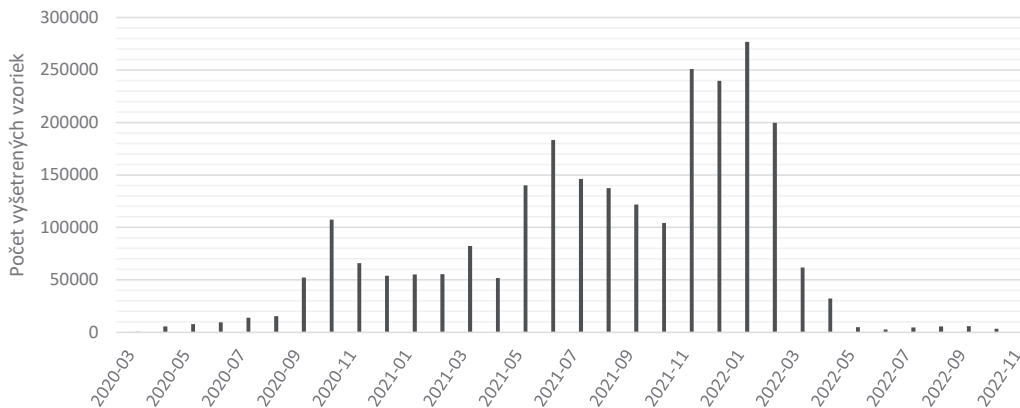
žívaných v diagnostickom reťazci pri tomto type klinického testovania. Vybrané bolo preto médium od lokálneho výrobcu umožňujúce inaktíváciu vírusov bez narušenia genetickej informácie. Navyše vybraný typ média udrží vzorku v stave použiteľnom pre testovanie, pri izbovej teplote a bezpečne neutralizovanú počas 6 dní (viRNAtrap, GeneSpector, s. r. o.), na rozdiel od iných komerčne dostupných médií, ktoré vyžadujú skladovanie pri  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  alebo pri  $2 - 8\text{ }^{\circ}\text{C}$  a vírus po odbere v týchto médiách ostáva aktívny. Unifikácia procesov sa realizovala aj pri označovaní vzoriek, keď sa už na odberových miestach zaviedlo označovanie vzoriek čiarovými kódmi, čo eliminovalo čas potrebný na práce párovanie vzoriek v laboratóriu. Zároveň nezávisle od laboratórneho spracovania vzoriek prebiehalo nahrávanie patientskych informácií do laboratórneho informačného systému (LIS).

Aby sa urýchlil i samotný priebeh vzorky laboratóriom, bolo potrebné všetky kroky, pri ktorých to bolo možné, automatizovať. Vzorky sa po príchode do laboratória najskôr preformátovali z odberových skúmaviek do 96-jamkových platničiek, kde sa spracovávali v platničkách po 94 vzoriek (posledné dve pozície v platničke boli určené pre negatívnu a pozitívnu kontrolu). Vzorky sa v prvotnej verzii automatizácie do platničiek pipetovali pomocou pipetora Evolis (BioRad) – 20 minút/1 platničku, neskôr pomocou rýchlejších Biomek i5 (Beckman Coulter) platforiem – 5 minút/1 platničku. Najdôležitejšie bolo, že obidva pipetory boli schopné skenovať čiarové kódy na skúmavkách a následne vytvoriť zoznam vzoriek spolu s pozíciou vzoriek v platničke. Vytvorený zoznam vzoriek sa následne použil na krížovú identifikáciu vzoriek v DNA extrakčnej a RT-qPCR reakčnej platničke a tiež na následné spojenie výsledku analýz s patientskym záznamom v LIS. Druhým krokom automatizovaného laboratórneho spracovania bola izolácia nukleových kyselín (NK), ktorá prebiehala prostredníctvom kitov využívajúcich magnetické guľôčky v izolátoroch KingFisher Flex (Thermo Scientific). Platničky s roztokmi potrebné na izoláciu NK sa pripravovali pomocou systému Biomek i7 (Beckman Coulter), ktorý dokázal v jednom pracovnom cykle predpripraviť až 6 platničiek (napr. lyzačný roztok, magnetické guľôčky, premývací roztok, etanol, elučný roztok, RT-qPCR mastermix). V poslednom kroku laboratórneho spracovania sa na prenášanie izolátov NK do RT-qPCR mastermixu (MMX) použilo automatické pipetovacie zariadenie Bravo (Agilent Technologies), ktoré dokáže preniesť 96 izolátov NK do mastermixu naraz a za pár sekúnd. Po skončení amplifikácie v cykloch a násled-

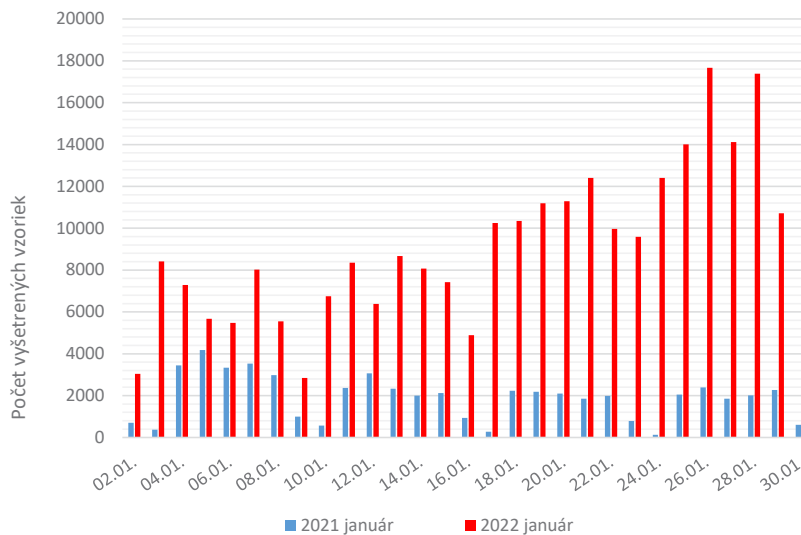
Obrázok 1. Priebeh spracovania vzoriek SARS-CoV-2.



**Obrázok 2.** Mesačné počty vyšetrených vzoriek SARS-CoV-2 v SPADIA LAB, a. s. marec 2020 – november 2022.



**Obrázok 3.** Denné počty vyšetrených vzoriek v januári 2021 a 2022.



nom zhodnotení dát bolo potrebné výsledky vyšetrení preniesť do laboratórneho informačného systému a priradiť ich k patientskym záznamom.

Aby takto nastavený proces vyšetrenia vzoriek mohol fungovať, musel sa nastaviť i prenos dát medzi jednotlivými zariadeniami. Prenos dát z rôznych pipetorov, izolátorov až k cyklerom z cyklerov do LIS a z LIS do databázy ISIN (Informačný systém infekčných nemocí) nastavili kolegovia z IT oddelenia a významne tým prispeli k urýchleniu celého procesu.

Priebeh vzoriek laboratóriom je schematicky znázornený na **obrázku 1**.

### Kapacita laboratória po zavedení automatizácie

Kapacita laboratória sa s pribúdajúcim počtom zariadení a s prechodom na dvojzmenný režim postupne zvyšovala. Zvyšovanie počtu zariadení – pipetorov, izolátorov a cyklov si časom vyžadovalo nové priestorové usporiadanie laboratória.

Na **obrázku 2** sú uvedené počty vyšetrených vzoriek za jednotlivé mesiace od začiatku pandémie SARS-CoV-2 po súčasnosť. Počty vzoriek sa v jednotlivých mesiacoch postupne zvyšovali. Súvisí to so zvyšujúcou sa kapacitou od-

delenia a s rastúcim počtom spracovávaných odberových miest. Maximálnu kapacitu naše laboratórium dosiahlo v období november 2021 až január 2022, keď sme mesačne vyšetřili okolo 250 000 vzoriek, teda priemerne každý deň asi 11 900 vzoriek.

**Obrázok 3** porovnáva počty vyšetrených vzoriek v jednotlivých dňoch s odstupom jedného roku v januári 2021 a 2022. Maximálny dosiahnutý počet vykonaných RT-qPCR testov počas 24-hodinovej zmeny bol 17 672 testov v januári 2022 (26. 1. 2022).

### Alternatívne metódy zvyšovania kapacity SARS-CoV-2 testovania

Jednou z možností, ako ďalej zvýšiť kapacity laboratória, bolo spracovávať vzorky spájaním, resp. poolovaním. Znamená to, že sa pripraví pool zmiešaním viacerých pôvodných vzoriek, ktorý sa následne vyšetří ako jedna vzorka a v prípade detekcie pozitivity sa takýto pool vzoriek testuje opakovaně, ale už každú vzorku v samostatnej analýze. Viaceré štúdie publikované v odborných časopisoch označujú poolovanie ako veľmi účinný nástroj zvýšenia testovacích kapacít a zároveň vyvracajú obavu z falošne negatívnych výsledkov

analýz poolu v dôsledku zriadenia pozitívnych vzoriek<sup>(4-7)</sup>. Táto metóda spracovania vzoriek sa však dá použiť len v situácii, keď je prevažná väčšina vzoriek negatívnych, teda najmä pri testovaní oddelene žijúcich skupín osôb, napr. v školách. Pri vyššom percente pozitívnych vzoriek hrozí, že sa bude zvyšovať i počet pozitívnych poolov, ktoré je nutné roztestovať.

Ďalšou alternatívou je zabezpečenie špeciálnych jednouúčelových (tzv. uzavretých) automatizovaných laboratórnych systémov. Príkladom je platforma od spoločnosti LGC (Biosearch Technologies' SARS-CoV-2 testing system)<sup>(8)</sup>, ktorá umožňuje realizáciu až 150 000 testov v rámci jedného dňa s minimalizáciou potrebných manuálnych úkonov. Samostatnou kapitolou je možnosť vybudovať špeciálne mobilné jednouúčelové laboratóriá (Huo-Yan Air Laboratory), ktoré sa pri testovaní na SARS-CoV-2 úspešne využívali v čínskych veľkomestách<sup>(9)</sup>. Ich kapacita presahovala 10 000 vzoriek

denne a veľkou výhodou je možnosť vybudovať ich v podstate na „zelenej lúke“ a v expresnom čase (24 hodín). Využitie takýchto systémov a laboratórií v regionálnom meradle je však limitované a v prípade, že sa skokovo znížia počty vzoriek, ktoré je potrebné v krátkom čase analyzovať, je ich prevádzka extrémne neflexibilná a ekonomicky nerentabilná.

#### Podakovanie

*Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Výskum progresívnych metód diagnostiky COVID-19 a biomarkerov umožňujúcich skorú detekciu jedincov so zvýšeným rizikom ťažkého priebehu ochorenia, kód ITMS: 313011ATA2, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.*

#### LITERTÚRA

1. Dall'Agnol J, Schwartz E, Lise F. *ABCS Health Sci.* 2021; 46: e021302.
2. Guoguang R, et al. *Reference Module in Biomedical Sciences.* 2021: B978-0-12-822548-6.00080-7
3. Jonguitud-Borrego N, et al. *Front Med Technol.* 2022 Sep 15; 4: 969203.
4. Barak N, et al. *Sci Transl Med.* 2021 Apr 14; 13(589): eabf2823.
5. Sawicki R, et al. *Sci Rep.* 2021; 11: 3122.
6. Deka A and Kalita D, *J Lab Physicians.* 2020 Dec; 12(3): 212–218.
7. Christoff AP, et al. *PLoS One.* 2021; 16(2): e0246544.
8. <https://www.biosearchtech.com/ultra-high-throughput-pcr-testing-system-for-sars-cov-2-detection>
9. <https://en.genomics.cn/huoyan/index.aspx>

**MVDr. Zuzana Dindová**

SPADIA LAB, a. s.,

Dr. Slabihoudka 6232/11, 708 00 Ostrava-Poruba, ČR

e-mail: zuzana.dindova@spadia.cz