



## ÚRAD VEREJNÉHO ZDRAVOTNÍCTVA SLOVENSKEJ REPUBLIKY

Trnavská cesta 52  
P.O.BOX 45  
826 45 Bratislava



Bratislava, 25.03.2021

### ÚVZ SR spustil sekvenovanie už aj vo svojich laboratóriách

*Sekvenovaním možno získať lepší obraz o výskyte mutácií vírusu na Slovensku a sledovať zmeny v genóme vírusu. Sekvenovacie kapacity sa budú ďalej navyšovať.*

Laboratóriá Úradu verejného zdravotníctva SR (ÚVZ SR) začali so sekvenáciou vzoriek pozitívnych na prítomnosť vírusu SARS-CoV-2. Týždenne plánujeme sekvenovať minimálne 96 pozitívnych vzoriek z rôznych častí Slovenska, maximálne je možný trojnásobok.

Na procese sekvenovania sme participovali i doteraz.

**„V laboratóriách ÚVZ SR sa sústreďovali všetky pozitívne vzorky určené na sekvenáciu z rôznych častí Slovenska, ktoré sa potom distribuovali do laboratórií, ktoré už sekvenáciu vykonávali, teda do Biomedicínskeho centra SAV a Vedeckého parku Univerzity Komenského v Bratislave. ÚVZ SR následne dáta sumarizoval, pretože je potrebné ich zasielať nielen do národného, ale aj európskeho surveillance systému. ÚVZ SR je totiž hlavným koordinačným orgánom Európskeho centra pre prevenciu a kontrolu chorôb (ECDC) za Slovenskú republiku v oblasti monitorovania a kontroly infekčných ochorení na našom území,“** uviedol hlavný hygienik SR Ján Mikas.

V dohľadnom čase sa do procesu sekvenovania zapoja aj Vedecký park Univerzity Komenského v Martine a Veterinárny ústav vo Zvolene. Kapacita sa tak môže navýšiť na 1000 pozitívnych vzoriek sekvenovaných týždenne.

#### **Význam sekvenovania**

Sekvenovanie je čítanie genetickej informácie uloženej v nukleovej kyseline – či už DNA, alebo v prípade koronavírusu RNA – písmenko po písmenku. Sekvenovaním sa teda „pozeráme“ na celý genóm vírusu a sledujeme na ňom výskyt všetkých známych aj neznámych mutácií.

**„Informácie o mutáciách a ich výskyte sú predovšetkým dôležité z epidemiologického hľadiska. Sekvenačné dáta však majú aj vedecký význam. Sledujeme evolúciu vírusu, dokážeme posúdiť vplyv mutácií na účinnosť vakcín či správnosť diagnostických súprav pre RT-PCR diagnostiku,“** vysvetlil hlavný hygienik SR.

Keď hovoríme, že vírus mutuje, znamená to, že sa mení jeho genetická informácia. Zmena v zápise genetickej informácie môže byť na prvý pohľad malá - niektoré „písmenko“ (nukleotid) vypadne alebo sa vymení za iné. Aj jediné „písmenko“ však môže podstatne ovplyvniť správanie vírusu. Môže sa zabudovať iná aminokyselina a následne vznikne odlišný

proteín, čím môžu nastať podstatné zmeny vo vlastnostiach vírusu, ako napríklad v spôsobe, akým sa vírus naviaže na bunky.

**„Sekvenátor nám teda umožňuje čítanie celého genómu koronavírusu – molekuly, ktorá má približne 30-tisíc nukleotidov. Pomocou tohto prístroja dokážeme preskúmať celú genetickú informáciu a sledovať, ako sa vírus mení v priebehu času. Vďaka informáciám o genóme a o tom, odkiaľ izoláty pochádzajú, vieme zistiť aj to, ako vírusy cestujú a ktoré sú najúspešnejšie v boji o hostiteľa,“** priblížila laboratórna diagnostička a molekulárna biologička na ÚVZ SR Anna Gičová.

Sekvenácia je v porovnaní s RT-PCR metódou omnoho náročnejší proces po všetkých jeho stránkach – časovo, technicky, personálne a aj finančne. Kým PCR vyšetrenie dokážu odborníci pripraviť a vyhodnotiť v priebehu pár hodín, sekvenácia so všetkými nevyhnutnými prípravami trvá aj niekoľko dní.

Oproti súčasnému prieskumu výskytu variantov SARS-CoV-2 pomocou PCR testovania má sekvenovanie výhodu v tom, že nie je potrebné sa presne zamerať na konkrétnu mutáciu.

**„Sekvenovaním sa „pozeráme“ na celý genóm vírusu, takže sledujeme výskyt všetkých mutácií, aj známych aj neznámych. Už teraz nám výsledky poukazujú na kolobeh nových mutácií, ktorých význam však ešte nevieme posúdiť. Tieto dáta sa ukladajú, takže sa na ne budeme môcť pozrieť, aj keď bude potrebné prípadné ich spätné dohľadávanie,“** uviedla A. Gičová.

### **Ktoré vzorky sa oplatí sekvenovať**

Nie každá vzorka je vhodná na sekvenovanie, musí obsahovať dostatočné množstvo vírusu. Vzorka odobraná v počiatočnom alebo konečnom štádiu ochorenia nemusí stačiť, vhodnejšia je vzorka odobratá v čase, keď je ochorenie rozvinuté a dá sa z nej izolovať dostatok vírusovej RNA. Sekvenácia vzoriek s menším množstvom vírusu je náročnejšia a nemusí byť úspešná.

**„Vzorky vyberáme na základe odporúčania ECDC, kde epidemiologické konzílium pripravilo stratégiu selekcie vzoriek. Rozhodujeme sa v prvom rade podľa toho, aký typ monitoringu chceme realizovať – či chceme zistiť, aký je stav na Slovensku, aké mutácie sa tu vyskytujú, alebo robíme cieleň monitoring,“** povedal hlavný hygienik SR s tým, že pri cieleňom monitoringu sa zameriavame na špecifických pacientov.

Napríklad na ľudí, ktorí ochoreli na COVID-19 po druhej dávke vakcíny, došlo u nich k opakovanej infekcii po prekonaní COVID-19, prípadne sú chorí veľmi dlho a majú narušený imunitný systém. V ich prípade sledujeme, ako sa vírus v ich tele mení v priebehu infekcie.

### **Ako funguje sekvenácia**

**„Čerstvo odobraná biologická vzorka putuje do inaktivačného média, ktoré zničí samotné vírusové častice, ale zároveň ochráni jeho genetickú informáciu. Vzorka prestáva byť infekčná. Inaktivačné médium tak robí prácu so vzorkami bezpečnejšou a zároveň podstatne uľahčí ich transport.**

**RNA je totiž veľmi citlivá a musí sa skladovať pri teplote pod -70 °C. Inaktivačné médium však dokáže genetickú informáciu ochrániť a umožní prepravu vzoriek do laboratória aj pri izbovej teplote,“** vysvetlila doktorka A. Gičová.

Zo vzorky sa izoluje genetický materiál a izolované vzorky možno následne vložiť do cykléra a RT-PCR metódou zistiť, či sú pozitívne na vírus SARS-CoV-2. Kvalitne izolovanú vzorku

od pozitívneho pacienta, ktorá obsahuje dostatočné množstvo vírusovej RNA, je možné aj sekvenovať.

Na účely sekvenácie je potrebné najskôr pomocou špeciálneho enzýmu „prepísať“ RNA vírus na DNA. **„Prístroj ďalej pracuje už s touto prepísanou DNA. Následne sa z tejto DNA v laboratóriu pripraví špeciálnym postupom tzv. genomická knižnica, ktorá obsahuje rôzne dlhé unikátne značené úseky DNA. Takto pripravená knižnica sa vloží do prístroja (sekvenátora), ktorý ju niekoľkotisíckrát prečíta a vznikne tak obrovské množstvo dát. Tieto dáta sa následne porovnávajú s genetickou informáciou pôvodného vírusu, čo nám umožňuje sledovať zmeny - mutácie ,“** priblížila doktorka Gičová.

Ohromné množstvo získaných dát musia ďalej spracovať bioinformatici, ktorí vyselektujú užitočné dáta patriace vírusu. Z nich dokážu vyskladať genóm vírusu v danej vzorke.

**„V tomto spolupracujeme s tímom doktora Tomáša Szemesa, ktorý vedie Centrum genomiky a bioinformatiky vo Vedeckom parku Univerzity Komenského v Bratislave,“** hovorí doktorka Gičová.

Vzorka, ktorá ide do sekvenátora, musí byť kvalitná. Musí sa s mimoriadnou presnosťou pripraviť, niekoľkokrát namnožiť, spracovať. Rovnako dôsledná musí byť aj príprava genomickej knižnice, s ktorou bude sekvenátor pracovať. Ide teda o veľmi precíznu prácu, ktorá zákonite trvá dlhšie než PCR vyšetrenie, s ktorým sa už stretla väčšina obyvateľstva.