

ΣΗΜΑΝΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΓΙΑ ΤΙΣ ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ SARS-CoV-2 ΣΤΑ ΛΥΜΑΤΑ: ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ ΚΑΙ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Με αφορμή την εν εξελίξει πανδημία που οφείλεται στον SARS-CoV-2, μια διεπιστημονική ομάδα του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ), υπό την καθοδήγηση του Καθηγητή Αναλυτικής Χημείας **Νικόλαου Θωμαΐδη**, και συνσυγγραφείς τους **Νικ. Αλυγιζάκη, Αθ. Μάρκου, Νικ. Ρούση, Κατ. Γαλάνη, Μαργ. Αυέρη, Παν. Αδαμόπουλο, Ανδ. Σκορίλα, Ευ. Λιανίδου, Δημ. Παρασκευή, Σωτ. Τσιόδρα, Αθ. Τσακρή και Θάνο Δημόπουλο** (Πρύτανη ΕΚΠΑ) προέβη στη βιβλιογραφική ανασκόπηση και καταγραφή των μεθοδολογιών προσδιορισμού του ιικού φορτίου στα λύματα. Το άρθρο, συνοψίζει τις υπάρχουσες μεθοδολογίες που έχουν εφαρμοστεί σε παγκόσμια κλίμακα και δημοσιεύτηκε στο διεθνούς φήμης και μεγάλης απήχησης (Impact Factor 9.8) περιοδικό Trends in Analytical Chemistry (<https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116125>). Αφορμή αποτέλεσε η καθημερινή παρακολούθηση του ιικού φορτίου του SARS-CoV-2 στα αστικά λύματα του Κέντρου Επεξεργασίας Λυμάτων (ΚΕΛ) της Ψυττάλειας (ΕΥΔΑΠ), που πραγματοποιείται από το Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας για την καταγραφή της διασποράς της νόσου COVID-19 στο λεκανοπέδιο Αττικής. Τα αποτελέσματα υποβάλλονται καθημερινά στη Γενική Γραμματεία Δημόσιας Υγείας και στην Επιτροπή Εμπειρογνομόνων του Υπουργείου Υγείας.

Από την προαναφερθείσα ανασκόπηση και καταγραφή, είναι έκδηλη η ανάγκη παρακολούθησης της εξέλιξης της πανδημίας, μέσω μη παρεμβατικών και με χαμηλό κόστος εργαλείων, όπως η Επιδημιολογία Λυμάτων. Με την εφαρμογή της μεθοδολογίας αυτής, αναπτύσσεται ένα σύστημα έγκαιρης και έγκυρης προειδοποίησης που αποτελεί αρωγό των αρμόδιων αρχών στη λήψη σωστών αποφάσεων την κατάλληλη στιγμή.

Οι συνθήκες φύλαξης των δειγμάτων, τα στάδια προσυγκέντρωσης και απομόνωσης του ιικού φορτίου είναι ιδιαίτερα κρίσιμα και πρέπει να ελέγχονται με εξωγενή πρότυπα και πειράματα επικύρωσης, ώστε να πραγματοποιείται ο έλεγχος ποιότητας της μεθοδολογίας και να εξασφαλίζεται η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων. Η ανίχνευση του ιικού φορτίου πραγματοποιείται με την τεχνική της RT-qPCR, η οποία παρέχει υψηλή ευαισθησία και απόδοση με χαμηλό κόστος. Λόγω της πολυπλοκότητας του αντικειμένου και της άμεσης ανάγκης για ευαίσθητες και αξιόπιστες μεθοδολογίες, απαιτείται περαιτέρω έρευνα για την βελτίωση των κομβικών σημείων που επηρεάζουν την ανάλυση.

Η εργασία που δημοσιεύτηκε από την διεπιστημονική ομάδα του ΕΚΠΑ, αποτελεί εφαλτήριο και προαπαιτούμενη γνώση για τις έρευνες που εκπονούνται για την ανίχνευση του SARS-CoV-2 στα λύματα. Παράλληλα, διενεργούνται σημαντικές ερευνητικές προσπάθειες σε πολλές ακαδημαϊκές μονάδες του ΕΚΠΑ.

Οι επόμενες εργασίες σχετικά με την παρουσία του SARS-CoV-2 στα λύματα αφορούν:

1. Την ανάπτυξη και επικύρωση νέου μοντέλου υπολογισμού των μολύνσεων από SARS-CoV-2 στην περιφέρεια της Αττικής σε καθημερινή βάση από τα λύματα.
2. Την ανάπτυξη πρωτότυπων και υπερευαίσθητων νέων μοριακών μεθοδολογιών για την ανίχνευση και αλληλούχηση του ιού SARS-CoV-2 σε αστικά λύματα και σε κλειστές δομές, οι οποίες αναμφισβήτητα αποτελούν εστίες υπερμετάδοσης (υπό το συντονισμό του Καθηγητή Κλινικής Βιοχημείας, **Ανδ. Σκορίλα**).
3. Την ανάπτυξη μιας πολλαπλής RT-ddPCR με σκοπό την άμεση απόλυτη ποσοτικοποίηση του αριθμού των αντιγράφων του ιού σε κλινικά δείγματα χωρίς την

ανάγκη εξωτερικής βαθμονόμησης (υπό το συντονισμό της Καθηγήτριας Αναλυτικής και Κλινικής Χημείας, **Ε. Λιανίδου**). Η droplet digital PCR (ddPCR) αποτελεί μια εξελιγμένη τεχνική ποσοτικής PCR με πολλά πλεονεκτήματα ως προς την αναλυτική ευαισθησία. Το κύριο πλεονέκτημα της αναπτυσσόμενης πολλαπλής RT-ddPCR έναντι της RT-qPCR είναι η πολύ καλή ειδικότητα, και η ακρίβεια στον ποσοτικό προσδιορισμό σε πολύ χαμηλά επίπεδα συγκεντρώσεων ιικού φορτίου.

4. Την εφαρμογή μεθοδολογιών με ddPCR για την ποσοτικοποίηση των αντιγράφων του SARS-CoV-2 που βρίσκονται στα λύματα με χαμηλό ιικό φορτίου λόγω της υψηλής ευαισθησίας και ακρίβειας της.

Σύσσωμη η ερευνητική κοινότητα του ΕΚΠΑ συνεργάζεται με σκοπό να συμβάλλει στην αναχαίτιση της πανδημίας. Μέσω της διεπιστημονικής προσέγγισης, της ανταλλαγής γνώσεων και εμπειρίας των ερευνητικών ομάδων του ΕΚΠΑ και της ενδελεχούς προσπάθειας, οι εργασίες που έπονται θα συνδράμουν σημαντικά στην κατανόηση της παρούσας γνώσης και θα την τροφοδοτήσουν με νέα, ενώ παράλληλα θα προσφέρουν χρήσιμα όπλα για την πρόληψη, τον περιορισμό και την αντιμετώπιση της πανδημίας.