



UJIAN PENGESANAN VIRUS RESPIRATORI MENGGUNAKAN KULTUR SEL

Panduan untuk Pegawai Perubatan dan Jururawat

Di sediakan oleh

**Dr Umi Kalsom Ali (Ketua Unit Kultur Tisu), Dr Wong Kon Ken, Dr Zalina Ismail,
Datin Dr Anita Sulong, Dr Siti Norlia Othman**

*Jabatan Mikrobiologi & Imunologi Perubatan, Fakulti Perubatan, Universiti Kebangsaan Malaysia
Jabatan Perkhidmatan Makmal Diagnostik, Hospital Canselor Tuanku Muhriz,
Pusat Perubatan Universiti Kebangsaan Malaysia*

Pengenalan

Unit Kultur Tisu ialah satu unit di bawah Jabatan Perkhidmatan Makmal Diagnostik yang menawarkan perkhidmatan pengesanan antigen dan pengkulturan virus. Untuk mengesan jangkitan virus respiratori contohnya Influenza A dan B, Parainfluenza 1,2 &3, Adenovirus, Respiratory Syncytial Virus (RSV) dan lain-lain, virus perlu di isolasi di dalam sel perumah.

Di dalam proses patogenesis jangkitan pernafasan virus akut, penyebaran virus secara maksimum berlaku dalam tempoh beberapa hari pertama jangkitan. Oleh itu, spesimen untuk menentukan etiologi penyakit-penyakit tersebut perlu diperolehi seawal mungkin. Selepas 3 hingga 5 hari pertama, tahap virus berkurangan, tetapi penyebaran virus boleh berlanjutan selama 1 hingga 2 minggu bergantung kepada jenis virus, umur pesakit, dan keterukan jangkitan.

Spesimen

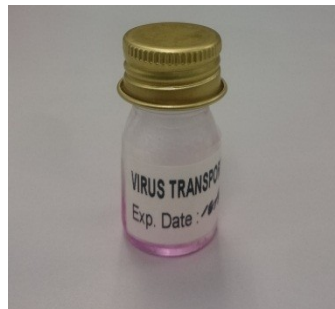
Spesimen perlulah di hantar ke makmal dengan segera dan menggunakan medium penghantaran yang sesuai. Sekiranya spesimen tidak dapat di hantar segera, ia harus disimpan di dalam suhu 4°C, dan di hantar ke makmal dalam tempoh 24 jam. Jadual berikut menunjukkan jenis spesimen dan ciri-ciri yang perlu ada untuk penghantaran setiap spesimen.

JENIS SPESIMEN	BEKAS PENGANGKUTAN	SUHU PENGANGKUTAN
Cucian hidung (<i>nasal wash</i>)	Bekas steril	Dalam keadaan sejuk (<i>On ice</i>)
Aspirat nasofarinks (<i>nasal-pharyngeal aspirate</i>)	Bekas steril	Dalam keadaan sejuk (<i>On ice</i>)
Swab nasofarinks (<i>nasopharyngeal swab</i>)	Virus Transport Medium (VTM)	Dalam keadaan sejuk (<i>On ice</i>)
Swab tekak (<i>throat swab</i>)	Virus Transport Medium (VTM)	Dalam keadaan sejuk (<i>On ice</i>)

Spesimen cucian hidung (*nasal wash*) dan aspirat nasofarinks (*nasal pharyngeal aspirate*) mengandung paras tertinggi virus dan boleh memberikan sejumlah besar sel untuk pewarnaan imunofluoresen (IF). Swab nasofarinks dan swab tekak lebih mudah diperoleh dan jika diambil dengan betul, juga sesuai untuk dikultur dan pewarnaan IF.



Contoh bekas spesimen steril



Contoh virus transport medium (VTM)

Teknik-teknik Pengujian

1. Pengesanan Antigen dengan Imunofluoresen

Pengesanan antigen dilakukan dengan kaedah imunofluoresen. Ia adalah kaedah yang menggunakan teknik tindakbalas antigen-antibodi. Di dalam tindakbalas ini, spesimen yang mengandungi antigen (virus) akan bergabung dengan antibodi monoklonal yang spesifik yang telah dikonjugat dengan pewarna fluoresen seperti FITC (*fluorescein isothiocyanate*) dan rhodamine. Keputusan positif akan menunjukkan warna fluoresen hijau pada nukleus atau sitoplasma sel.

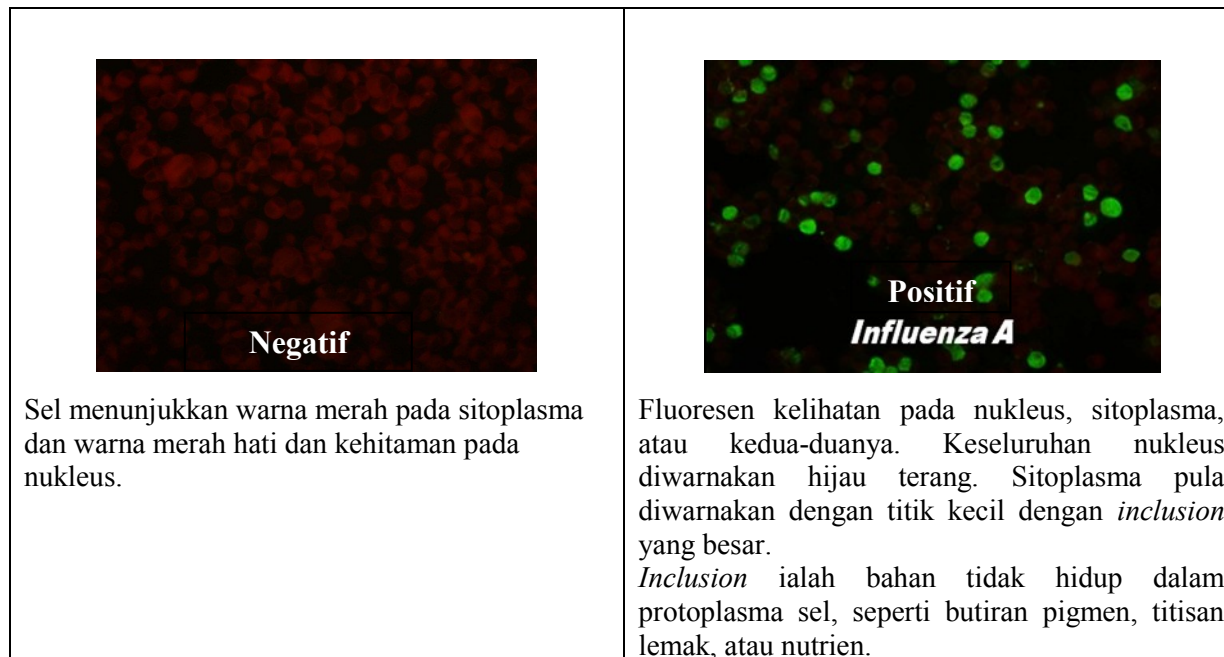
2. Kultur Sel

Pengkulturan virus dari spesimen hanya boleh dilakukan di dalam sel dan tidak di dalam media sintetik. Kultur sel di gunakan untuk pertumbuhan dan replikasi virus. Keupayaan untuk mengisolasi virus bergantung kepada kualiti spesimen yang di hantar. Spesimen harus diambil ketika jangkitan dalam keadaan akut diperingkat awal. Ia juga perlu dihantar segera, didalam media pengangkutan yang sesuai dan dalam keadaan sejuk.

Jenis-jenis sel yang digunakan untuk isolasi virus termasuk Primary monkey kidney (PMK), Madin-Darby canine kidney (MDCK) dan HEp-2. Sel Primary monkey kidney (PMK) selalunya digunakan kerana sensitif terhadap virus influenza dan parainfluenza. Sel-sel yang berterusan (*continuous cell line*) yang boleh digunakan sebagai alternatif ialah sel Madin-Darby canine kidney (MDCK) untuk influenza A dan B dan sel LLC-MK2 (sel berterusan buah pinggang yang diperolehi daripada sel ginjal monyet rhesus) untuk virus parainfluenza. Sel HEp-2, sel epitelium manusia yang berasal dari tumor laring, sangat sesuai untuk pertumbuhan respiratory syncytial virus (RSV) dan adenovirus.

Selepas spesimen di inokulasi ke dalam sel, ia akan di eramkan untk pertumbuhan. Sebarang perubahan pada morfologi sel (*cytopathic effect* (CPE)) akan di perhatikan. Sekiranya terdapat *cytopathic effect* (CPE), ini menunjukkan bahawa virus telah tumbuh dan proses pengesanan virus yang spesifik menggunakan teknik imunofluoresen (seperti di atas) akan di lakukan.

Contoh keputusan pengujian imunofluoresen:



Edisi Pertama: Ogos 2017

Rujukan:

1. Manual Kit Pewarnaan IF Respiratory Panel 1. LIGHT DIAGNOSTICS™ Respiratory Viral Screen and Identification DFA Kit. Chemicon®
2. Umi Kalsom Ali, Wong Kon Ken, Abdul Hamydy Abdul Hamid, Haslina Mahbob, Nor Maslini Ismail, Azillah Raskina Darani. 2017. TFF2017455. Immunofluoresence Staining in Medically Important Viruses. <http://smk.ukm.my/epenerbitan/index.cfm>.
3. Isenberg H. 2004. Vol 3. Clinical Microbiology Procedure Handbook. ASM Press. American society for Microbiology. Chapter 10.2: Handling of Uninoculated Monolayer Cell Culture, m/s: 10.2.5