



ČESKÁ LÉKAŘSKÁ SPOLEČNOST J. E. PURKYNĚ

Společnost pro lékařskou mikrobiologii

Odborné stanovisko Společnosti pro lékařskou mikrobiologii vypracované ve spolupráci s Národní referenční laboratoří SZÚ pro chřipku a nechřipková respirační virová onemocnění

Principy přímého průkazu SARS-CoV-2 metodou RT-PCR

1. Preanalytická část vyšetření

Odpovídajícím materiálem je výtěr z nosohltanu, doplněný o výtěr z orofaryngu. Důvodem výtěru z nosohltanu je cílit na místo primárního pomnožení viru v horních dýchacích cestách, na zadní stěně orofaryngu je virus zpravidla přítomen v souvislosti s kašláním při postižení dolních dýchacích cest.

Odběr se provádí umělohmotnými jednorázovými výtěrovými štětičkami, na jejichž konci je kartáček vyrobený z umělého vlákna (např. z polyesteru Dacron nebo nylonu). Obě anatomická místa mohou být setřena stejnou výtěrovou štětičkou anebo dvěma výtěrovými štětičkami zvlášť. Pokud jsou použity dvě samostatné výtěrové štětičky, mají být zanořeny do společné zkumavky s tekutým virologickým transportním médiem. Takto odebraný materiál lze uchovávat v chladničkové teplotě 2 až 8 °C po dobu až 72 hodin, v případě nutnosti delšího uchování je doporučena teplota -70°C nebo nižší.

Základem transportního média je pufr o osmolaritě fyziologického roztoku, protektivní bílkovina, antibiotika a antimykotika; pro tento účel lze také použít buněčné kultivační médium. Žádné mezinárodní postupy neuvádějí použití suché výtěrovky jako variantu transportu.

2. Analytická část vyšetření

Laboratorní část vyšetření sestává z extrakce RNA z odebraného materiálu (tj. z virologického transportního média) a z provedení RT-PCR pomocí postupů validovaných pro detekci virových nukleových kyselin z klinických vzorků. Mezinárodní postupy, publikované pod hlavičkou WHO, se shodují na potřebě stanovení minimálně dvou oblastí virového genomu pro účely detekce SARS-CoV-2. Standardně doporučované cíle pro detekci zahrnují otevřené čtecí rámce ORF1ab (tedy geny pro RNA-dependentní RNA polymerázu RdRP), nukleokapsidový protein N, obalový protein E a povrchový glykoprotein S, a to vždy v kombinaci s interní kontrolou detekce.

Pro potřeby správného testování by laboratoř měla při možnosti získání vzorků externího hodnocení kvality úspěšně projít národními, lépe pak mezinárodními kontrolami kvality kontrolujícími celou analytickou fázi vyšetření.

Za SZÚ a Národní referenční laboratoř:
MUDr. Barbora Macková
RNDr. Helena Jiřincová

Za Společnost pro lékařskou mikrobiologii:
Prof. MUDr. Pavel Dřevínek, PhD
MUDr. Petr Hubáček, PhD

Schváleno Výborem SLM ČLS JEP dne 9. dubna 2020

Prof. MUDr. Pavel Dřevínek, Ph.D.
2. LF UK a Fakultní nemocnice v Motole
Ústav lékařské mikrobiologie
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5
tel: +420 224435390
e-mail: pavel.drevinek@lfmotol.cuni.cz

Prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.
Lékařská fakulta UP v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc
Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc
tel: +420 585 63 2407 (2402),
fax: +420 585 63 2417
e-mail: kolar@fnol.cz