

ONTWIKKELING VAN EEN PROTOCOL VOOR DE ANALYSE VAN VIRUS MONSTERS MET MASSA SPECTROMETRIE (MS)



Dit rapport is een resultaat van door het Ministerie van Defensie ingestelde doelfinancieringsprogramma V1408. De beschreven resultaten van het onderzoek vallen binnen project 'V1408_4.1_MS/MS Diagnose B', met projectnummer 06.07530 en is deliverable nummer D4.1.1. De Nederlandse Krijgsmacht is zeer geïnteresseerd in snelle

virus detectie en identificatie met Massaspectrometrie omdat de methode generiek is en omdat betrouwbare en gevoelige detectie van biologische dreigingsentiteiten nog steeds een lacune is in de DIM-architectuur. De resultaten uit deze studie laten zien dat detectie en identificatie van virussen met massaspectrometrie een veel belovende methode is om generiek virussen te identificeren. Echter de gevoeligheid van de ontwikkelde methode moet verder verbeterd worden om direct klinische virus monsters te kunnen analyseren.

Probleemstelling

Betrouwbare en snelle detectie van biologische dreigingsentiteiten is nog steeds een lacune in de DIM-architectuur. Een groot aantal van de klassieke en mogelijk als biologisch wapens te gebruiken entiteiten zijn virussen (bv. Ebola, Marburg, Lassa virus, West Nile virus, smallpox). Een generieke methode om deze virussen te detecteren is niet beschikbaar.

Aanpak van het onderzoek
Een effectieve reactie op een bio-terroristische aanval of uitbraak van een (nieuw) infectie-ziekte, vereist snelle, accurate detectie en identificatie

van het desbetreffende micro-organisme. De noodzaak van snelle detectie en accurate diagnose wordt onderstreept door de recente uitbraken met influenza virussen, SARS, MERS en meest recent de Ebola epidemie. Massaspectrometrie (MS) is een snelle methode geschikt voor het analyseren van biologische verschillen tussen micro-organismen.

In dit rapport beschrijven we een mogelijke aanpak om tot een toepassing te komen waarbij virus deeltjes kunnen worden gedetecteerd en geïdentificeerd met MS gebaseerde methoden.

Resultaten

Dit onderzoek laat zien dat we reproduceerbaar virussen tot een concentratie van 7×10^6 virusdeeltjes kunnen aantonen en identificeren. Voor gekweekte virussen of monsters met een hoge concentratie virus deeltjes is dit goed genoeg. Echter voor het aantonen van virussen in klinische monsters moeten 1×10^4 virusdeeltjes kunnen worden aangetoond. Door het combineren van een verdere verbetering van de virus isolatie en het concentreren van de virusdeeltjes in een kleiner volume samen met de verwachte verbeterende gevoeligheid van nieuwe massaspectrometers in de toekomst, voorzien we dat het vereiste niveau van gevoeligheid voor directe virologische diagnostische toepassingen in de nabije toekomst kan worden bereikt.