Contactgegevens:
T: 050/45 99 00
M: laboratorium.secretariaat@azsintjan.be

Encephalitis screening d.m.v. real-time PCR: detectie van 7 virussen, 6 bacteria & 1 fungus

Beschrijving van de test

Naam:	Encephalitis screening d.m.v. real-time PCR: detectie van 7 virussen, 6 bacteria & 1 fungus
Aanvraag code:	55090
Frequentie:	Op aanvraag
TAT:	2 uur
TAT Dringend:	1 uur 20'
24u/24u:	ja
Accreditatie:	ISO 15189:2022 (379-MED)
Verantwoordelijke bioloog:	dr. Marijke Reynders

Afname van het materiaal

Volume:	0,5 mL

Criteria voor aanvaarding of bijaanvraag

Acceptatie:	Correct en onbeschadigd recipiënt met duidelijke identificatiegegevens.
Bijaanvraag:	Indien het monster een correcte pre-analytische fase doorliep en veilig bewaard zit (zie bewaarcondities), is dit toegelaten.

Analyse

Analysemethode:	Met de FilmArray-analyse op BioFire-toestel kunnen 6 bacteri‰n (Haemophilus influenzae, Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus agalactiae, Listeria monocytogenes, E.coli K1), 7 virussen (HSV-1, HSV-2, VZV, Enterovirus, Parechovirus, CMV, HHV-6) en 1 gist (Crytococcus gatti/neoformans) gedetecteerd worden. Deze analyse maakt gebruik van 4 stappen:

1. DNA/RNA extractie: Het staal wordt eerst gelyseerd m.b.v. magnetische beads waarbij de nucle‹ne zuren vrijkomen. Deze worden vervolgens gecapteerd, gewassen en ge‰lueerd, waardoor ze worden opgezuiverd.
2. Reverse transcriptase en 1e multiplex PCR: Aangezien ook RNA-virussen gedetecteerd worden is reverse transcriptase nodig. Hierbij wordt cDNA gemaakt. Vervolgens wordt een multiplex uitgevoerd om alle cDNA en DNA van de pathogenen te amplificeren.
3. Nested-PCR (2e PCR): het PCR-product van de 2e stap wordt verdund en gemengd met PCR-producten die ook probes bevatten. De primers zijn aanwezig in de individuele wells van de array voor het detecteren van de pathogenen, alsook de controles. In elke well zijn de primers aanwezig voor ,,n target. En per target (pathogeen) zijn er 3 wells voorzien om de specificiteit en gevoeligheid van de test te verhogen.
4. Smeltcurve analyse: Indien tijdens de 2e PCR (nested-PCR) het target aanwezig is en dus geamplificeerd is, zullen de probes ook in het amplicon aanwezig zijn. Door de temperatuur geleidelijk te verhogen en simultaan het fluorescent signaal in alle wells te meten wordt een smeltcurve gegenereerd. De smeltcurve is afhankelijk van het target en de software analyseert deze automatisch.

Deelname EKE:	Ja
Interferentie:	Voorzichtigheid is geboden bij zowel staalafname als transport als uitvoering van analyse. Draag steeds handschoenen en een mondmasker, gezien de meeste van de kiemen die geamplificeerd worden ook in speeksel aanwezig kunnen zijn, en het CSV dus vals kunnen positiveren bij druppelcontaminatie.
Interpretatie:	De detectielimiet voor volgende parameters in lumbaal vocht is: E.coli DNA - 1000 CFU/ml ; H.influenzae DNA - 1000 CFU/ml ; L.monocytogenes DNA - 1000 CFU/ml ; N.meningitidis DNA - 100 CFU/ml ; S.agalactiae DNA -1000 CFU/ml; S.pneumoniae DNA - 100 cells/ml ; CMV DNA - 4300 copies/ml ; Enterovirus RNA - 50 TCID50/ml ; Herpes simplex virus type 1 DNA - 1510 copies/ml ; Herpes simplex virus type 2 DNA - 1290 copies/ml ; Human herpesvirus 6 DNA - 10 000 copies/ml ; Human parechovirus RNA - 500 TCID50/ml ; Varicella zoster DNA - 1660 copies/ml ; Cryptococcus neoformans en/of Cryptococcus gattii DNA -100 CFU/ml . Voor een aantal virussen ligt deze LOD vrij hoog, zeker i.g.v. immuundefici‰nte populaties, waar men bij beginnende reactivatie te maken kan hebben met lagere virale ladingen. In

principe en i.g.v. voldoende restvolume (550 æL) na uitvoering van het FA-panel, wordt elk negatief CSV-staal geconfirmeerd aan de hand van de meer gevoelige PCR HSV-1/2, PCR Varicella, PCR enterovirus (PCR parechovirus waar mogelijk, zeker in pediatrie en adolescenten). In geval van een positieve virale PCR, wordt er een monoplex PCR ingezet voor de specifieke pathogeen ter confirmatie. In geval van een positieve PCR voor Cryptococcus species, zal een specifieke latex agglutinatie volgen.

Laatst gewijzigd op

26-02-2025

Copyright © 2026 All rights reserved.