

Respiratoire screening dmv real-time PCR (TAC, Taqman Amplification Card): detectie van 26 virussen, 10 bacteria & 2 schimmels

Beschrijving van de test

Naam:	Respiratoire screening dmv real-time PCR (TAC, Taqman Amplification Card): detectie van 26 virussen, 10 bacteria & 2 schimmels
Aanvraag code:	55092
TAT:	24 uur tot 3 dagen
TAT Dringend:	4 uur (na aankomst van staal in labo & na overleg)
24u/24u:	nee
Accreditatie:	ISO 15189:2012 (379-MED)
Verantwoordelijke bioloog:	dr. Marijke Reynders

Afname van het materiaal

Toegelaten materiaal:	BAL, sinusaspiraats, nasale was, neusaspiraats, opgehoest sputum, Serum (i.g.v. vermoeden chronische Q-koorts)
Volume:	1 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:	De test is gebaseerd op 3 processen: (i) DNA/RNA bereiding via de geautomatiseerde QS extractie (Qiagen). Tijdens iedere extractie wordt PDV toegevoegd aan het te extraheren monster en dit fungeert als extractie- en amplificatie controle.
-----------------	---

(ii) Mengen van het extract met de Mastermix en laden van de arraykaart

(iii) Simultane PCR amplificatie en detectie van het doelwit DNA en het interne controle DNA gebruik makend van specifieke primers en probes. De doelwitsequenties wordt opgespoord in 48 verschillende uniplex real-time PCR reacties, en aparte reactie is voorzien om PDV als interne controle op te sporen, 18S rRNA en RNaseP als controle op de aanwezigheid van humane cellen.

18S rRNA is een component van de kleine eukaryotische ribosomale subunit (40S); 18S rRNA is het structureel RNA voor de cytoplasmische ribosomen, en dus 1 van de basiscomponenten van alle eukaryotische cellen. Ribonuclease P (RNase P) is een ribonuclease dat RNA klieft. RNase P is uniek en verschilt van andere RNases in het feit dat het een ribozyme is, een ribonucleïnezuur dat ageert als een katalysator op de manier dat een proteïne-gebaseerd enzyme het zou doen. Zijn functie is om een extra (precursor) RNA sequentie af te klieven op tRNA molecules.

Deelname EKE: QCMD / INSTAND

Interferentie: In geval van coinfectie in een respiratoir staal (komt voor in 20 tot 25% van het aantal klinische monsters in de acute fase van infectie-vnl. bij jonge kinderen), is het niet altijd duidelijk welk van de aanwezige micro-organismen de meeste pathogeniciteit aanricht. Gezien deze moleculaire detectietechniek een hoge gevoeligheid* kent, en gezien het genomisch materiaal van respiratoire virussen tot 3 à 6 weken (grote variabiliteit tussen verschillende virussen) detecteerbaar kan blijven in de luchtwegen van pediatrische en immuungedeprimeerde patiënten, kan het voorkomen dat één van de gerapporteerde pathogenen zelfs niet meer viabel is in vivo en dus lokaal niet erg veel schade meer aanricht, en de andere pathogeen op zichzelf volledig verantwoordelijk is voor acute respiratoire klachten. Deze techniek kan hierbij geen onderscheid maken tussen viabel of dood restmateriaal, enkel detectie van het specifieke target RNA/DNA. Een aantal virussen komt voor > 50% in coinfecties voor, en het klinisch belang is discutabel (o.a. bocavirus), en voor een aantal pathogenen is chronisch dragerschap beschreven (carriers), o.a. voor adenovirussen. *** Volgens recente literatuurdata (o.a. GRACE-studie) 2010-2011: Analytische Gevoeligheid t.o.v. monoplex in-house PCR varieert tussen de verschillende micro-organismen: INF 84,8%, RSV 88,6%, hMPV 100%, hRV 95,2%, hCoV 98%. Bij een specifiek en hoog klinisch vermoeden op Bordetella pertussis (verwittiging labo op 2860) zal het klinisch NASOPHARYNGALE monster steeds met een tweede PCR B.pertussis & parapertussis worden onderzocht om de hoogst mogelijk zekerheid te bekomen mbt actieve infectie. Ook voor Influenza A/B, Legionella pneumophila, RSV, hMPV, PIV1-3,

Chlamydophila pneumoniae en *Mycoplasma pneumoniae* is een tweede back-up test beschikbaar. De analytische specificiteit tov in-house monoplex PCR is hoog: 98,3%-100%, i.f.v. specifiek organisme.

Interpretatie:

Opsomming van de via PCR gedetecteerde en kwalitatief (positief/negatief) gerapporteerde pathogenen:

Virussen: influenza A (inclusief subtypering), influenza B, parainfluenza type 1-4, bocavirus, rhinovirussen, paraechovirussen, enterovirussen (inclusief EV-D68), adenovirussen, coronaviridae OC43 - NL63 - 229E - HKU1 - SARS-2 (MERS: enkel op specifieke aanvraag), hMPV, RSV-A, RSV-B, Mazelen, Bof, CMV, HSV-1/2, CMV. Bacteriën: *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Bordetella holmesii*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Chlamydophila psittaci*, *Legionella pneumophila*, *Coxiella burnetii* (PLUS *Streptococcus pneumoniae*, enkel geantwoord >10³, of in BAL en Pleuravocht). Fungi: *Pneumocystis jirovecii*, *Aspergillus fumigatus*

Het aantal causale agentia van acute RTI is groot en erg divers, wat een enorme diagnostische uitdaging inhoudt. De co-amplificatie van verschillende targets zal ons inzicht versterken in de klinische betekenis van gemengde infecties en eveneens in de prognose van de verschillende virale infecties. De volgende virussen detecteert men regelmatig tijdens acute respiratoire infecties: adenovirus (actueel 57 serotypes, ingedeeld in groep A-G), coronavirus (OC43, NL63, 229E, HKU1), enterovirus, humaan metapneumovirus (hMPV A en B), influenzavirus A-B-C, parainfluenzavirus 1-4 (PIV), rhinovirus (RV type A-B-C), parechovirus (type 1-16), polyomavirussen KI en WU, bocavirus en natuurlijk RSV A en B. We kunnen een aantal brede besluiten trekken omtrent virale etiologie en kindrhospitalisatie naar aanleiding van een respiratoire infectie:

- Het influenzavirus, adenovirus, hMPV, PIV, RV en RSV kunnen allen bronchiolitis (en zeldzaam pneumonie) veroorzaken die hospitalisatie vereisen.
- Bij kinderen is RSV veruit de belangrijkste oorzaak van hospitalisatie als gevolg van bronchiolitis en verhoogde ziekte-ernst.
- Virale co-infectie is een frequent voorkomend fenomeen dat optreedt in circa 20 à 25% van de gevallen. Er is geen consensus betreffende het effect van co-infectie op de ernst van ziekte, en het hangt zeker af van welke virussen betrokken zijn bij de co-infectie.

Copyright © 2025 All rights reserved.