

I. ALGEMENE BEMERKINGEN

Voor de tweede evaluatie van het jaar 2000 (enquête 2000/2) werd volgend materiaal verzonden op 25 april.

1.1. Vier gelyofiliseerde monsters voor identificatie.

Het betrof 4 reïnculturen. Voor 1 monster werden de resultaten van de gevoeligheidstesten tegen 7 antibiotica gevraagd.

Eén monster werd opgestuurd vanwege zijn educatief belang, de resultaten worden niet in aanmerking genomen voor de evaluatie van de laboratoriumprestaties.

De urologen met laboratoriummerkenning dienden voor de monsters aangeduid met een asterisk verplicht de identificatie uit te voeren.

1.2. Twee fecessuspensies in formol voor parasitologisch onderzoek.

1.3. Twee gelyofiliseerde plasmamonsters voor toxoplasma serologie.

AANTAL DEELNEMERS

Het aantal evalueerbare antwoordbulletins bedroeg :

1. Voor identificatie en antibiogram :	271
2. Voor parasitologie :	250
3. Voor toxoplasma serologie:	243

II. IDENTIFICATIES

2.1 Cultuur M/903

Deze stam, geïsoleerd uit feces van een patiënt met gastroenteritis, is een *Salmonella* Typhimurium var. Copenhagen.

Het genus *Salmonella* bestaat slechts uit twee species :

1. *S. enterica*, die verder verdeeld is in zes subspecies
 - *S. enterica* subsp. *enterica* (1454 serovars)
 - *S. enterica* subsp. *salamae* (489 serovars)
 - *S. enterica* subsp. *arizonae* (94 serovars)
 - *S. enterica* subsp. *diarizonae* (324 serovars)
 - *S. enterica* subsp. *houtenae* (70 serovars)
 - *S. enterica* subsp. *Indica* (12 serovars)

2. *S. bongori* (20 serovars)

Er werden tot op heden 2 463 serovars beschreven.

De meerderheid van de *Salmonella* afgezonderd bij de mens en de warmbloedige dieren behoort tot subspecies *enterica*. De andere subspecies worden geïsoleerd bij koudbloedige dieren en uit de omgeving (zeer zelden bij de mens).

Serovars, die behoren tot *S. enterica* subspecies *enterica* worden benoemd met een naam, die gewoonlijk verbonden is met de geografische plaats waar het serovar voor het eerst werd geïsoleerd. Deze wordt geschreven met een hoofdletter en niet cursief gedrukt.

Volgens de Code der Nomenclatuur zou *S. Typhimurium* moeten worden aangeduid als *S. enterica* subs. *enterica* serovar Typhimurium. Deze nomenclatuur is nogal omslachtig en daarom kwam men tot de overeenkomst voor de subspecies *enterica* noch de species of subspecies te vermelden maar enkel de serovar geschreven met een hoofdletter en niet cursief gedrukt.

De serovars van de andere subspecies worden benoemd met hun antigenformule volgend op de naam van het subspecies. Het lijkt voldoende dat een routinelaboratorium antwoordt met *Salmonella* sp ., daar de serotypering voornamelijk van belang is op epidemiologisch vlak en weinig klinische implicaties heeft. Voor de werking van het referentielaboratorium is het interessant, dat het doorsturende laboratorium de stammen reeds getest heeft met anti-O :4,5 (groep B), anti-O :9 (groep D) en anti-O :6,7,8 (groepC).

I. Wybo
(referentielaboratorium voor *Salmonella* en *Shigella* – WIV-LP)

12 deelnemers antwoordden voor dit monster *Salmonella* van groep A. Bij nader onderzoek bleek dat dit antwoord vooral gesteund was op het resultaat van de API 20E galerij. Voornamelijk de code 0104552 of zeer goede identificatie (99,8%) van *Salmonella paratyphi A* werd bekomen. Het resultaat dient wel te worden bevestigd met serologische testen, zoals de API-index zelf vermeldt. Het resultaat van enkel de API test is dus niet voldoende voor de groepsbepaling.

REFERENTIES

1. Michel-Yvan Popoff, Jochen Bockemühl, Frances W. Brenner Supplement 1998 (no. 42) to the Kauffmann-White scheme. Res. Microbiol. 151 (2000): 63-65.
2. F.W.Brenner, R.G.Villar, F.J.Angulo, R. Tauxe, B. Swaminathan *Salmonella* Nomenclature. J. Clin. Microbiol. 38 (7): 2465-2467.

2.2. Cultuur M/1733

geïsoleerd uit een hemocultuur bij een patiënt met aspiratiepneumonie na een zelfmoordpoging is een *Eikenella corrodens*.

2.2.1. Taxonomie

In 1948 voor het eerst geïdentificeerd en dan in 1958 door Eiken beschreven als *Bacteroides corrodens* is *Eikenella corrodens* nu ondergebracht in het genus *Eikenella* dat voorlopig enkel dit species omvat.

2.2.2. Identificatie

Eikenella corrodens is een fijn gram negatief staafje, onbeweeglijk (geen flagellen), facultatief anaëroob, capnofiel, oxidase positief en catalase negatief. Het organisme heeft geen kapsel, groeit eerder traag en bij voorkeur op hemine-rijke bodems. Na 48 uur zijn de kolonies klein, transparant, niet-hemolytisch met een helder centrum dat uitgroeit in een afgeplatte zoom. Na 3 tot 4 dagen incubatie worden de kolonies geel. Het ingroeien in de agarbodem ("pitting") is karakteristiek voor deze kiem maar is bodemafhankelijk en kan zelfs in een deel van de stammen totaal afwezig zijn. Klassiek wordt ook een hypochloriet geur beschreven al doet die vaak meer denken aan een *Haemophilus*.

E. corrodens behoort tot de HACEK -groep (een acroniem voor *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella* en *Kingella*). Volgende eigenschappen kenmerken deze groep: traag groeiende gramnegatieve staafjes, geen of slechte groei op Mc Conkey, CO₂ lievend, nood aan hemine en een voorkeur voor infectie van de hartkleppen. *E. corrodens* vergist geen enkele suiker en dit is bruikbaar voor de differentiatie binnen deze groep.

2.2.3. Ecologie en klinisch belang

E. corrodens behoort tot de normale flora van mond en bovenste luchtwegen. Ook de gastro-intestinale en vrouwelijke genitale slijmvliezen kunnen gekoloniseerd zijn. Meestal wordt de kiem geïsoleerd uit **gemengde infecties** vaak met andere karakteristieke commensale flora. Gewoonlijk verloopt een infectie vrij traag en indolent. Klassiek gebeurt de inoculatie via speeksel (hoge prevalentie bij periodontitis!). Vandaar dat slachtoffers van bijtenden (mens), nagelbijters, en intraveneuze druggebruikers ("ontsmetten" van de naald of insteekplaats met speeksel) het vaakst geconfronteerd worden met abscessen veroorzaakt door deze kiem. De kwalijke geur die verspreid wordt door dergelijke ontstekingen doet in eerste instantie denken aan anaërobe infecties. Talrijke andere locaties zijn beschreven zoals longabscessen, pleuraempyem, gynaecologische infecties (IUD), osteomyelitis... Belangrijk nog om vermelden is dat *E. corrodens* of

andere organismen van de HACEK groep verantwoordelijk zijn voor 3 tot 5 % van de gevallen van endocarditis.

2.2.4. Antibiotica

E. corrodens is meestal vrij gevoelig. Er zijn geen NCCLS criteria bekendgemaakt. Uittesten van antibiotica kan gebeuren op HTM (Haemophilus test medium). Succesvolle behandelingen zijn beschreven met ampicilline, cefalosporines van de tweede of derde generatie en tetracyclines. In vitro is de kiem gevoelig voor fluoroquinolones. Klassiek wordt resistentie beschreven tegen clindamycine (kan handig zijn bij de identificatie) penicillinase resistente semisynthetische penicillines, vancomycine, metronidazole en de aminoglycosiden. Resistentie door β -lactamase productie is zeldzaam en beantwoordt aan β -lactamase-inhibitor combinaties.

H. De Beenhouwer
(O.L.V. Ziekenhuis Aalst Dept. Microbiologie – Serologie)

REFERENTIES

1. Murray P.R. et al. Manual of Clinical Microbiology. Seventh Edition. 1999. American Society for Microbiology. Washington D.C.
2. Appleton and Lange . Zinsser Microbiology: 20th edition
3. Mandell G.L. et al. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Pracxtice of Infectious Diseases. Fifth Edition. 2000. Churchill Livingstone
4. Kugler et al. Determination of the antimicrobial activity of 29 clinically important compounds tested against fastidious HACEK group organisms. *Microbiol Infect Dis* 1999;34:73-76.
5. Berbari et al. Infective endocarditis due to unusual or fastidious microorganisms. *Mayo Clin Proc* 1997;72: 532-542.

2.3. Cultuur M/2103

geïsoleerd uit een hemocultuur van een 72-jarige landbouwer met diabetes, een malum perforans aan de linker hiel en een chronische osteomyelitis, is een *Arcanobacterium pyogenes*.

De sepsis bij deze patiënt trad onmiddellijk op na de plaatsing van een femoropopliteale bypass wegens arteriële insufficiëntie van het linkerbeen. Dit is een didactisch monster.

2.3.1. Inleiding

Arcanobacterium pyogenes, ook nog wel *Actinomyces pyogenes* genoemd en in de oudere literatuur terug te vinden onder de naam *Corynebacterium pyogenes*, is in de veterinaire wereld veel beter gekend dan in de menselijke infectiologie. Runderen, schapen, varkens, geiten en pluimvee kunnen een breed spectrum aan infecties vertonen, veroorzaakt door dit organisme. De nabijheid van vee als epidemiologische achtergrond van deze zoönose komt ook tot uiting in de informatie die bij dit isolaat vermeld wordt: het ging immers om een landbouwer met diabetes en een malum perforans, die een sepsis deed na een revascularisatiepoging en waarbij ook uit het wondvocht van de voet dezelfde *Arcanobacterium pyogenes* werd geïsoleerd in een mengflora van aërobe en anaërobe kiemen.

2.3.2. Taxonomie

In de literatuur wisselt dit organisme nogal eens van genus zoals ook blijkt uit de reeds vermelde naamgeving. Recente moleculair biologische analyse van de 16S rRNA sequenties van het genus *Actinomyces* brengt de organismen *Arcanobacterium pyogenes*, *Arcanobacterium bernardiae* en *Arcanobacterium phocae* samen met het type species *Arcanobacterium haemolyticum* onder één genus.

2.3.3. Klinisch belang

Daar waar *A. haemolyticum* vooral bekend is als probleemkiem bij de isolatie van de verwekkers van faryngitis of tonsillitis (zie ook de enquête 01/1998, cultuur M/851) en het onderscheid moet gemaakt worden met *Streptococcus pyogenes*, is de literatuur rond de klinische betekenis van *A. pyogenes* in de menselijke geneeskunde een stuk schaarser. Sporadische gevallen van weke deleninfecties, otitis, intra-abdominale infecties, cystitis, sepsis en endocarditis zijn beschreven. De relatie *Arcanobacterium pyogenes* sepsis en een geïnfecteerde wonde - al of niet bij een diabetespatiënt - in een rurale omgeving, komt geregeld voor in de casuïstiek.

2.3.4. Identificatie

Arcanobacteria groeien op bloedagar en vertonen allen een β -hemolyse, vooral in een CO₂ rijke omgeving; zichtbare kolonies en hemolyse zijn pas duidelijk na 48 uur incubatie; *A. pyogenes* vertoont de grootste kolonies (1mm diameter na 48 uur) en de meest uitgesproken β -hemolyse. Het zijn Gram positieve, catalase negatieve, onbeweeglijke staafjes. Bij deze stam gaf de API Coryne galerij probleemloos de juiste identificatie (profiel 4732760; % Id. 99,9 *A. pyogenes*). Sleuteltesten om het organisme te onderscheiden van *A. haemolyticum*, zoals gelatinase (positief bij *A. pyogenes*), β -glucuronidase (positief bij *A. pyogenes*) en xylose-assimilatie (positief bij *A. pyogenes*) zitten dan ook in dit identificatiesysteem. De "omgekeerde" CAMP-test, die gebruikt wordt om de identificatie van *A. haemolyticum* te bevestigen (inhibitie van de β -hemolyse van een *Staphylococcus aureus* op schapenbloedagar) is negatief in aanwezigheid van *A. pyogenes*. *Arcanobacterium pyogenes* vertoont het Lancefield groep G antigen (Pastorex®Strep); *A. haemolyticum* geeft geen reactie in deze latexagglutinatie-test. Het gaschromatografisch profiel van de vetzuurcelwand-samenstelling (Professor dr. J. Verhaegen, K.U.Leuven) toont een overmaat aan C_{14:0}, C_{16:0}, C_{18:1 w9c}, wat volgens de recente editie van de Manual of Clinical Microbiology (Murray P.R. et al.) overeenstemt met het genus *Arcanobacterium*.

2.3.5. Gevoeligheid aan antibiotica

De meeste Arcanobacteria zijn gevoelig voor β -lactamantibiotica, tetracyclines, rifampicine en lincosamines. Gevoeligheid ten opzichte van de aminosuikers en de quinolones is variabel. Macroliden worden beschouwd als eerste keuze middel bij de behandeling van faryngitis door *A. haemolyticum* gezien de uitstekende activiteit in vitro, de vrees voor tolerantie ten opzichte van penicilline en de intracellulaire werking van de macroliden. De opgestuurde *A. pyogenes* stam bleek echter in vitro ongevoelig te zijn voor erythromycine en clindamycine (groei op bloedagar tot tegen de schijfjes Neo-Sensitabs®Rosco).

I. Surmont (Heilig Hartziekenhuis-VZW Roeselare)

REFERENTIES

1. Murray P.R. et al. Manual of Clinical Microbiology. Seventh Edition. 1999. American Society for Microbiology. Washington D.C.
2. Reddy I., Ferguson D.A., Sarubbi, F.A. Endocarditis Due to *Actinomyces pyogenes*. *Clin. Inf. Dis.* 1997; 25: 1476-1477.
3. Lynch M., O'Leary J., Murnaghan D., Cryan B. *Actinomyces pyogenes* septic arthritis in a diabetic farmer. *J. Infect.* 1998; 37: 71-73.
4. Pascual Ramos C., Foster G., Collins M.D. Phylogenetic analysis of the genus *Actinomyces* based on 16rRNA gene sequences: description of *Arcanobacterium phocae* sp. nov., *Arcanobacterium bernardiae* comb. nov., and *Arcanobacterium pyogenes* comb. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1997; 47: 46-53.
5. Funke G., von Graevenitz A., Clarridge J.E., Bernard K.A. Clinical Microbiology of coryneform bacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* 1997; 10: 125-159.

2.4. Cultuur M/2237

geïsoleerd uit een ooretter van een patiënt met otitis externa is een *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)

Tekst niet tijdig ontvangen.

III. RESULTATEN VAN DE IDENTIFICATIES (N=271)

3.1 Cultuur M/903 *Salmonella* Typhimurium var. Copenhagen (feces) N=271

<u>Salmonella typhimurium</u>	7	(28,8%)
<u>Salmonella enterica</u>	2	(0,7%)
<u>Salmonella groep B</u>	54	(24,4%)
<u>Salmonella sp</u>	118	(43,5%)
<u>Salmonella factor 4</u>	1	(0,4 %)
Salmonella groep A	12	
Salmonella niet typhimurium	1	
Salmonella cholerasuis	1	
Serratia liquefaciens	1	
Citrobacter freundii	1	
Zonder antwoord	1	

3.2 Cultuur M/1733 *Eikenella corrodens* (hemocultuur) N=271

<u>Eikenella corrodens</u>	235	(86,7%)
* <u>Eikenella sp</u>	3	(1,1%)
Haemophilus aphrophilus	1	
Haemophilus ducreyi	2	
Haemophilus sp.	2	
Kingella kingae	1	
Kingella denitrificans	3	
Klebsiella oxytoca	1	
Neisseria cinerea	1	
Nocardia sp	1	
Fusobacterium sp	1	
Capnocytophaga achracea	1	
Gram negatieve bacil	4	
Pasteurella multocida	5	
Geen groei	3	
Geen antwoord	7	

* cfr commentaar p.5

3.3. Cultuur M/2103 *Arcanobacterium pyogenes* (hemocultuur)
N=271

<u>Arcanobacterium pyogenes</u>	152	(56,1%)
<u>Actinomyces pyogenes</u>	74	(27,3%)
* <u>Corynebacterium pyogenes</u>	3	(1,1%)
Actinomyces sp.	1	
Arcanobacterium haemolyticum	17	
Arcanobacterium corrodens	1	
Arcanobacterium sp.	6	
Abiotrophia adiacens	1	
Corynebacterium sp	1	
Erysipelothrix rhusiopathiae	1	
Streptococcus β hemolytisch	2	
Streptococcus groep B	1	
Streptococcus milleri	1	
Rhodococcus sp	1	
Oxidase – Gram-	1	
Aerobe Gram+ bacil	1	
Geen antwoord	7	

* is een oudere benaming

3.4 Cultuur M/2237 *Pseudomonas aeruginosa* (ooretter)
N=271

<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	269	(99,3%)
Pseudomonas fluorescens	1	
Zonder antwoord	1	

IV. ANTIBIOGRAM

Het type antibiogram werd opgemaakt door verschillende experten volgens de twee meest gebruikte methoden, die als referentie kunnen dienen : de schijfjesmethode volgens NCCLS en ROSCO (NEO-SENSITABS).

4.1 Cultuur M/2237

	Verwacht resultaat	S	I	R	Niet getest
piperacilline	S	247	0	3	21
amikacine	S	262	2	0	7
fluoroquinolone	S	252	4	8	7
ceftazidime	S	250	0	9	12
carbapenem	S	252	0	0	19
tobramycine	S	204	1	0	66
aztreonam	S	218	3	5	44

IV. PARASITOLOGIE

5.1. De monsters

Elke deelnemer ontving twee fecessuspensies in formol, P/2231 en P/2283.

Voor beide monsters werden volgende gegevens verstrekt:

P/2231 “ Jongen van 12 jaar woont met zijn ouders in Congo en komt ieder jaar tijdens de grote vakantie terug naar België. Met vage buikklachten komt hij met zijn ouders op consultatie in het ITG-Antwerpen.

De jongen houdt veelvuldige zwempartijen in lokale waters.

Laboresultaten: $8,4 \times 10^9$ wbc/l, met 65% ($0,54 \times 10^9$ /l) eosinofielen, normale sedimentatie en normale levertesten. ”

P/2283 “Verpleegster van 32 jaar werkzaam in een verzorgingsinstelling komt op consultatie met als enige klacht algemene vermoeidheid. Klassieke hemato en chemie vertonen geen abnormaliteiten. Bij de 2de consultatie klaagt de patiënt ook over onregelmatige diarree.”

P/2231 bevatte eieren van *Schistosoma mansoni* en zeer zeldzame cysten van *Entamoeba coli*. In monster P/2283 werden door de leden van het expertencomité (bij voorafgaande controle) geen parasieten gevonden.

5.2. De resultaten

De resultaten van de kwaliteitsevaluatie vinden we terug in de onderstaande tabellen. De codes bij de naam van de parasieten verwijzen naar de parasitologie tabellen van het WIV-LP, dienst klinische biologie en zijn eveneens terug te vinden op de website: <http://www.iph.fgov.be>

Tabel 1. Volgende parasieten werden teruggevonden in het monster P/2231 (aantal deelnemende laboratoria = 250).

Naam	Aantal antwoorden
(0) Afwezigheid van parasieten	3
(6) <i>Cryptosporidium sp</i>	1
(7) <i>Cyclospora sp</i>	1
(9) <i>Endolimax nana</i>	5
(10) <i>Entamoeba coli</i>	70
(12) <i>Entamoeba hartmanni</i>	1
(13) <i>Entamoeba histolytica</i>	3
(14) <i>Entamoeba dispar</i>	1
(17) <i>Giardia lamblia, G. intestinalis</i>	2
(20) <i>Sarcocystis hominis</i>	8
(81) <i>Taenia saginata</i>	1
(84) <i>Dicrocoelium dendriticum</i>	2
(92) <i>Paragonimus westermani</i>	1
(93) <i>Schistosoma haematobium</i>	1
(94) <i>Schistosoma intercalatum</i>	1
(96) <i>Schistosoma mansoni</i>	242
Totaal	343

Tabel 2. Ontvangen resultaten voor monster P/2283 (aantal deelnemende laboratoria = 245)

Naam	Aantal antwoorden
(0) Afwezigheid van parasieten	223
(6) <i>Cryptosporidium sp</i>	9
(7) <i>Cyclospora sp</i>	1
(13) <i>Entamoeba histolytica</i>	1
(16) <i>Enteromonas hominis</i>	1
(17) <i>Giardia lamblia, G. intestinalis</i>	2
(20) <i>Sarcocystis hominis</i>	1
(72) <i>Trichostrongylus sp</i>	1
(80) <i>Hymenolepis nana</i>	4
(94) <i>Schistosoma intercalatum</i>	1
(96) <i>Schistosoma mansoni</i>	1
Totaal	245

Tabel 3. Monster P/2231 : volgende parasieten of combinaties van parasieten werden gevonden in dit staal.

Parasieten	Aantal labo's
0	3
10/17/96	1
10/20/96	4
10/92/96	1
10/96	62
12/96	1
13/14	1
13/96	2
20/96	3
6/96	1
7	1
81/96	1
84/96	2
9	1
9/10/96	2
9/17	1
9/96	1
93	1
94/96	1
96	160
Totaal	250

Voor het monster P/2283 werden geen combinaties van parasieten gemeld.

5.3. Bespreking van de resultaten

5.3.1 Monster P/2231

250 laboratoria stuurden een resultaat in. Eieren van *Schistosoma mansoni* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werden herkend door 242 (97 %) van de laboratoria.

62 (25 %) van de deelnemers vonden de combinatie : eieren van *Schistosoma mansoni* met zeer zeldzame cysten van *Entamoeba coli*. Tabel 3 toont in detail de andere parasieten of combinatie van parasieten die gevonden werden in dit fecesmonster.

5.3.2 Monster P/2283

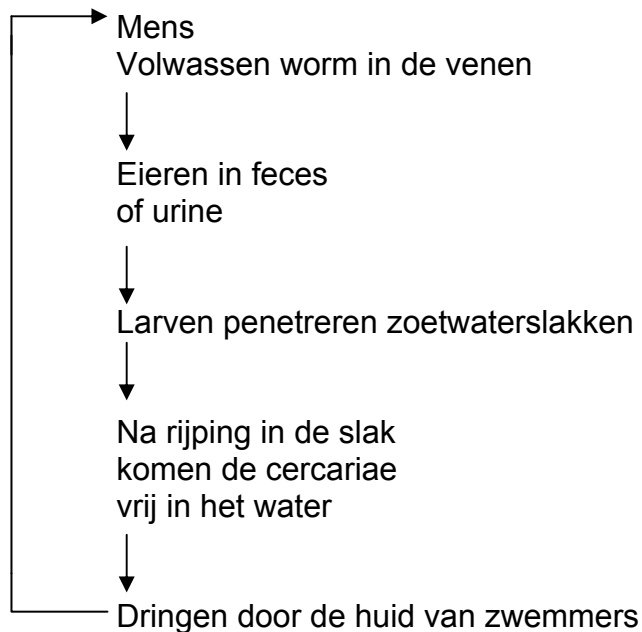
Dit negatief fecesmonster werd door 223 (91%) van de 245 deelnemende laboratoria correct beoordeeld. Tabel 2 toont in detail de parasieten die door de 22 andere laboratoria werden gevonden. 9 Deelnemers (3,6%) vonden *Cryptosporidium sp.* in dit monster en 4 (1,6%) andere eieren van *Hymenolepis nana*.

5.4. Beschrijving van de parasieten

Tabel 4. geeft een duidelijk overzicht van de Schistosoma, pathoogeen voor de mens

Species	Geographic distribution	Reservoir hosts	Intermediate snail host genus	Diagnostic specimen	Egg size
Schistosoma mansoni	Africa, Malagasy, West Indies, Surinam, Brazil, Venezuela	Humans, nonhuman primates	Biomphalaria	Stool, rectal biopsy, serologic specimen	114-180 by 45-73
Schistosoma japonicum	China, Indonesia, Japan, Philippines	Humans, dogs, cats, cattle, water buffalo, pigs	Oncomelania	Stool, rectal biopsy, serologic specimen	55-85 by 40-60
Schistosoma mekongi	Mekong River basin	Humans, dogs, rodents	Lithoglyphopsis	Stool, rectal biopsy, serologic specimen	30-55 by 50-65
Schistosoma haematobium	Africa, Middle East, India, Portugal	Humans	Bulinus	Urine, stool (some cases), serologic specimen	112-170 by 40-70
Schistosoma intercalatum	Central and western Africa	Humans	Bulinus	Stool, rectal biopsy, serologic specimen	140-240 by 50-85

5.5. Levenscyclus



5.6. Diagnose

5.6.1 Parasitologische methoden

Morfologie en eigenschappen zie tabel 4.

De standaard parasitologische technieken zijn geschikt voor het opzoeken van Schistosoma eieren in de feces.

De flotatietechniek met zinksulfaat kan niet gebruikt worden wegens de grote dichtheid van de eieren.

In de urine kunnen *S. haematobium* eieren gevonden worden door onderzoek van het sediment of door filtratie technieken op membranen.

Schistosoma eieren worden onregelmatig uitgescheiden, ook hun aantal is in het algemeen gering. Onderzoek van monsters van verschillende dagen is dan ook nuttig (minimum 3).

Indien het onderzoek van fecesmonsters negatief blijft kan een rectumbiopsie soms helpen en kunnen eieren aangetoond worden door onderzoek van een kleine stukje van de mucosa.

5.6.2 Immunodiagnose

Serodiagnose wordt vooral gebruikt voor het aantonen van antilichamen. Oplosbaar ei antigenen en extracten van volwassen wormen worden meest gebruikt in ELISA en indirecte hemagglutinatietechnieken. De resultaten zijn niet echt species specifiek en afhankelijk van het gebruikte antigeen zijn er sterke kruisreacties.

In sommige research laboratoria maakt men gebruik van monoclonale antistoffen om genus specifieke glycoproteïnen (antigenen) op te sporen.

T. Vervoort
Instituut voor Tropische Geneeskunde
Laboratorium Klinische Biologie

REFERENTIES

1. L.R. Ash & Thomas C. Orihel. Parasites: A Guide to Laboratory Procedures and Identification. American Society of Clinical Pathologists, Chigaco, 1987.
2. L. S. Garcia. Practical Guide to Diagnostic Parasitology. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1999.
3. Davis in Manson's Tropical Diseases, Edited by G.C. Cook, W.B. Saunders Company Ltd. Twentieth ed. 1996; p.1413-1455.

VI. TOXOPLASMOSE SEROLOGIE

6.1. Beschrijving van de monsters

Twee gevriesdroogde plasmamonsters :

- S/1364 : IgG positief en IgM laag positief
- S/1365 : IgG positief en IgM laag positief

Volgende klinische informatie werd gegeven :

Beide monsters zijn afkomstig van eenzelfde patient

Een jonge vrouw van 21 jaar wordt gescreend tijdens de zwangerschap.

Monster S/1364 : bloedafname bij 10 weken zwangerschap ;

S/1365 : bloedafname bij 14 weken zwangerschap.

6.2. De deelnemers

In het totaal namen 243 laboratoria deel aan deze enquête.

6.3. Gebruikte reagentia

Volgende tabel geeft in aantal weer welke reagentia voor IgG en IgM bepaling door de deelnemers gebruikt werden :

Fabrikant	Reagens IgG	Aantal	Reagens IgM	Aantal
Abbott	Toxo IgG	43	Toxo IgM	41
	Toxo MEIA	67	Toxo MEIA	65
	Niet gespecificeerd	5	Niet gespecificeerd	5
bioMérieux	ToxolG	65	ToxolG	63
	ToxolG-IFA	5	ToxolG-IFA	5
	Toxo-spot IF	2	Toxo –spot IF	6
			Toxoplasma IgM capture	4
			Toxo ISAGA	1
	Niet gespecificeerd	3	Niet gespecificeerd	2
Beckman	Access Toxo IgG	17	Access Toxo IgM	16
Sorin	ETI-ToxoK-G plus	16	ETI-ToxoK-M plus	17
	Toxo IgG	1	Toxo IgM	1
DadeBehring	Toxo IgG-EIA	1	Toxo IgM-EIA	1
	Toxoplasrose IgG	1	Toxoplasrose IgM	1
	ander	1	ander	1
DPC	Toxo IgG	2	Toxo IgM	2
Pacia	Toxo IgG	1	Toxo IgM	1
Roche	Toxo IgG 2 cobas core	3	Toxo IgM rec cobas core	3
Organon	Toxonostika IgG	1	Toxonostika IgM	1
Biorad	New Platelia Toxo IgG	4	New Platelia Toxo IgM	4
Home made		1		1
Andere		2	Andere	2
	Niet gespecificeerd	2	Niet gespecificeerd	2

IgA werd opgespoord door 22 deelnemers met :

Toxo MEIA van Abbott, 2 deelnemers,
Platelia Toxo IgA van Biorad , 8 deelnemers,
ETI-Toxok-A plus van Sorin, 8 deelnemers,
Toxo-spot IF van bioMérieux, 1 deelnemer,
Home-made, 3 deelnemers

IgG aviditeit werd bepaald door 61 deelnemers met :

Toxo IgG Avidity van bioMérieux, 58 deelnemers
Toxo IgG Avidity van DadeBehring, 3 deelnemers

6.4. Resultaten

6.4.1. Verdeling van de resultaten voor het monster S/1364

Resultaat	IgG N=243	IgM N=245	IgA N=22	IgG aviditeit N=61
Geen	15	7	0	
+	228	114	22	
+/-	0	79	0	
-	0	45	0	
In %				61

Voor IgM : 79 twijfelachtig resultaten
45 negatieve resultaten

6.4.2. Verdeling van de resultaten voor het monster S/1365

Resultaat	IgG N=243	IgM N=245	IgA N=22	IgG aviditeit N=61
Geen	15	8	0	
+	228	123	22	
+/-	0	72	0	
-	0	42	0	
In %				61

Voor IgM : 72 twijfelachtig resultaten
42 negatieve resultaten

6.4.3. Twijfelachtige en negatieve resultaten voor IgM werden bekomen met de volgende reagentia :

Fabrikant	Reagens IgM	aantal	S/1364		S/1365	
			+/-	-	+/-	-
Abbott	Toxo IgM	41	21	7	16	6
	Toxo MEIA	65	28	16	31	12
	Niet gespecificeerd	5	3		3	
bioMérieux	ToxoIgM	63	2		2	
	ToxoIgM-IFA	2	1	1	1	1
	Toxo –spot IF	6	4	2	4	2
	Toxoplasma IgM capture	4				
	Toxo ISAGA	1				
	Niet gespecificeerd	3				
Beckman	Access Toxo IgM	16	2	13	2	13
Sorin	ETI-ToxoK-M plus	17	12	2	9	3
	Toxo IgM	1	1		1	
DadeBehring	Toxo IgM-EIA	1	1		1	
	Toxoplasmose IgM	1		1		1
	ander	1				
DPC	Toxo IgM	2		1		2
Pacia	Toxo IgM	1	1			1
Roche	Toxo IgM rec cobas core	3				
Organon	Toxonostika IgM	1		1		1
Biorad	New Platelia Toxo IgM	4	1			
Home made		1	1		1	
andere	andere	2	1	1	1	1

6.4.4. Weergave van de interpretaties

Enkele laboratoria gaven meer dan 1 interpretatie

Interpretatie (N)	Geen opmerking	Complementaire testen	Nieuwe afname > 3 weken	Geen confirmatie nodig
Geen (13)	4	5	2	2
Recente infectie (33)	1	20	6	6
Oude infectie (151)	12	40	9	90
Seroconversie (9)		3	2	4
Andere (49)	8	28	8	5

Van de 90 laboratoria die de stalen correct interpreteerden, nl infectie ouder dan 3 maanden en geen confirmatie nodig, waren er 47 laboratoria die de IgG aviditeitstest toepastten .

Indien confirmatie of complementaire testen werden opgegeven , dan waren deze voornamelijk de aviditeitstest en de IgA bepaling.

6.5. Commentaar

De klinische informatie voor de twee monsters specificceert dat het over een zwangere vrouw gaat die op een termijn van 10 en 14 weken zwangerschap geprikt werd voor de bepaling van toxoplasma antilichamen. De vraag is om de resultaten van deze twee monsters te interpreteren: is de serologie suggestief voor een oud contact (van voor de zwangerschap); voor een recente infectie (infectie in de zwangerschap); of is de patiënte niet immuun (geen antistoffen).

De twee monsters die werden opgestuurd bevatten hoge niet evolutieve titers in IgG en lage (borderline) titers in IgM. Het profiel van deze twee monsters wijst in dit geval duidelijk op een infectie die plaatsvond meer dan 3 maand geleden.

De eerste antilichamen, die verschijnen na een verworven toxoplasmose zijn de IgM antistoffen. Deze kunnen verschijnen vanaf enkele dagen tot 2 weken na de infectie en bereiken hun piekwaarde enkele weken tot 2 maand na de infectie. Na het bereiken van deze piek zullen de antistoffen geleidelijk dalen om tenslotte te negatieveren. Afhankelijk van techniek die gebruikt wordt in het labo kan deze periode korter of langer zijn: IgM antistoffen gemeten d.m.v. immunofluorescentie zullen in regel sneller dalen dan IgM antistoffen gemeten d.m.v. EIA. In sommige gevallen kunnen IgM antistoffen meerdere jaren na de acute infectie blijven persisteren. De aanwezigheid van IgM antistoffen is dus zeker geen synoniem voor een recente infectie.

De twee monsters, die werden opgestuurd, bevatten lage waarden voor IgM antistoffen. Deze IgM antistoffen werden echter niet door alle laboratoria gevonden. Dit wijst hoegenaamd niet op een gebrek van de gebruikte kits: de gevonden waarden schommelden immers rond de detectielimiet. Het is meestal niet nuttig om een IgM assay te hebben die meer dan twee jaar na de acute infectie nog IgM antistoffen detecteert. Het niet terugvinden van IgM antistoffen werd dus niet als "fout" aangerekend. Gezien het lang persisteren van IgM antistoffen na een acute infectie is het aan te bevelen een kwantitatieve (titerbepaling) of een semi-kwantitatieve bepaling (laag positief, positief, of hoog positief) van de IgM uit te voeren.

De IgG antistoffen verschijnen na de IgM antistoffen. Afhankelijk van de gebruikte techniek bereiken ze hun piek 2 tot 6 maand na het begin van de infectie. IgG antistoffen gemeten door middel van een immunofluorescentie stijgen vlugger en bereiken vlugger de piekwaarde dan IgG antistoffen gemeten d.m.v. EIA. IgG antistoffen blijven levenslang positief en kunnen gebruikt worden om de immuniteit van de patiënt t.o.v. *T. gondii* te bepalen. Het is niet ongewoon dat sommige patiënten jaren na de acute infectie nog een zeer hoge IgG titer voor *T. gondii* vertonen. Dit wijst in geen geval op een abnormaal voortschrijdende infectie en vereist geen verdere behandeling, en zeker geen verdere onderzoeken.

Wanneer op het initiële staal zowel IgG antistoffen als IgM antistoffen worden gevonden is het meestal noodzakelijk bijkomende serumstalen te analyseren. Een tweede en soms een derde bloedafname zijn meestal noodzakelijk om een evolutie te zien in de serologie. Bij patiënten met een

zeer hoge IgG titer in het eerste staal is het weinig waarschijnlijk dat een tweede staalname een significante stijging zal aantonen gezien we reeds op een plateau fase in de antilichaamrespons zijn. Bij deze patiënten kan het interessant zijn om andere serologische testen op deze stalen uit te voeren (vb. andere IgM en IgG techniek, complement fixerende antilichamen, IgA bepaling, IgG aviditeit enz.). De combinatie van deze verschillende technieken zal in de meeste gevallen een adequaat antwoord kunnen geven met betrekking tot het mogelijke tijdstip van de infectie.

Alle laboratoria vonden hoge titers in IgG. De resultaten van de IgG titers varieerden echter sterk van labo tot labo. Ook binnen eenzelfde commerciële kit werden er sterk variërende waarden gevonden: (vb van 221 IU tot 1949 IU op hetzelfde monster). Bijgevolg moet een titerstijging in IgG tussen opeenvolgende monsters steeds voorzichtig worden geïnterpreteerd. Om een titerstijging aan te tonen moeten beide monsters met dezelfde techniek in dezelfde run worden getest. IgG titers mogen dus niet tussen de verschillende labo's worden vergeleken.

IgA antistoffen verschijnen na de IgM antistoffen en verdwijnen sneller dan de IgM antistoffen. Daar er ook patiënten zijn waarbij de IgA antistoffen persisteren na de acute infectie, kunnen IgA antistoffen ook gevonden worden bij oude infecties. Dit wordt duidelijk geïllustreerd door de persisterende aanwezigheid van IgA antistoffen in de 2 stalen die werden opgestuurd.

De IgG aviditeit kan eveneens een hulpmiddel zijn om de toxoplasma infectie te dateren. Een hoge aviditeit pleit meestal voor een oude infectie, terwijl een lage aviditeit pleit voor een recente infectie. De laboratoria, die een IgG aviditeitstest hebben uitgevoerd, vonden allen een hoog percentage aviditeit wat suggestief is voor een oude infectie.

Bij het interpreteren van een toxoplasmose serologie zullen we dus ten alle tijde rekening houden met het totale beeld van het profiel en ons nooit laten leiden door de al of niet aanwezigheid van één parameter (IgM; IgA of IgG aviditeit).

We mogen tenslotte nooit uit het oog verliezen dat iedere patiënt immunologisch verschillend kan reageren, en dat de beste technieken uitgevoerd door de meest performante labo's, in sommige gevallen geen correcte interpretatie toelaten bij bepaalde zeldzame sera.

Bij het invullen van het antwoord kon gekozen worden tussen de volgende interpretaties: Seronegatief voor de twee monsters; Recente infectie (minder dan 3 maand geleden); Oude infectie (> dan 3 maand geleden) Seroconversie en andere

Juiste antwoorden:

Oude infectie (> 3 maand)

Slechts 90 van de 250 laboratoria interpreteerden volledig correct de 2 monsters.

Onduidelijke antwoorden:

49 andere labo's gaven "andere" interpretaties dan die die voorgesteld werden: enkele voorbeelden van andere interpretaties zijn: "recente infectie van meer dan 4 maand", "mogelijke seroconversie", "vrij recente infectie". Deze labo's maakten het zich nodeloos moeilijk, gezien de interpretaties veelal in een van de andere antwoorden konden worden ingelast.

Foutieve antwoorden waren:

recente infectie (33), seroconversie (9) en geen interpretatie (7).

Dat 9 laboratoria de resultaten van de monsters als "seroconversie" interpreteerden is verbazend. Immers een seroconversie betekent de afwezigheid van antistoffen in een eerste serum en het verschijnen van antistoffen in het daarop volgend serummonster.

Het niet geven van een interpretatie wordt ook als een fout weerhouden.

A. Naessens (UZ VUB-Jette)