

I. ALGEMENE BEMERKINGEN

Voor de derde evaluatie van het jaar 2001 (enquête 2001/3) werd volgend materiaal verzonden op 8 oktober 2001.

- 1.1. **Vier gelyofiliseerde monsters** voor identificatie.
Het betrof 3 reïnculturen en 1 mengsel. Voor 2 monsters werden de resultaten van de gevoeligheidstesten gevraagd.

- 1.2. **Een fecessuspensie in formol** voor parasitologisch onderzoek.

- 1.3. **Drie vloeibare plasmamonsters** voor het opsporen van antistoffen tegen HIV en syfilis.

AANTAL DEELNEMERS

Het aantal evalueerbare antwoordbulletins bedroeg :

- | | |
|--|--------------------------|
| 1. Voor identificatie en antibiogram : | 245 |
| 2. Voor parasitologie : | 229 |
| 3. Voor de serologie : | 235 (HIV), 211 (syfilis) |

II. IDENTIFICATIES

2.1 Cultuur M/3062 *Haemophilus influenzae*

werd geïsoleerd uit een longaspiraats bij een COPD 'Chronic Obstructive Pulmonary Disease' patiënt.

De identificatie van deze stam stelde weinig problemen, zoals de goede score (97 % correcte identificaties) laat vermoeden.

Gevoeligheidsbepalingen met *Haemophilus influenzae* zijn niet eenvoudig. Het testmilieu dat gewoonlijk aanbevolen wordt is HTM (*Haemophilus* test medium) (1, 2, 4, 5). De aanbevelingen van de NCCLS en de SFM voor bepalingen met schijfjes op HTM lopen nogal uiteen onder meer voor macroliden en tetracycline (2, 5). De meest voorkomende resistentie bij *H. influenzae* is het gevolg van de productie van een β -lactamase (TEM-type of ROB-1) (3, 4, 5). De β -lactamase-gemedieerde resistentie treft alle penicillines (inclusief amino-, carboxy-, en ureïdopenicillines) alsmede sommige cefalosporines (2, 3, 4, 5). De prevalentie van deze vorm van resistentie varieert van streek tot streek (van 2 tot > 35%) en mag voor ons land geraamd worden op 10 à 25% (3, 4, 6). Er werden eveneens β -lactamase-negatieve, ampicilline-resistente *Haemophilus influenzae* (β -lactamase-negative, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* of BLNAR) beschreven (1, 3, 6). Hier is de resistentie niet te wijten aan de aanwezigheid van een β -lactamase maar waarschijnlijk aan gewijzigde receptoren (1, 3). Het opzoeken van deze vorm van resistentie is technisch niet eenvoudig en gebeurt bij voorkeur via een dilutiemethode (1). Ook zeldzame fluorochinolone-resistentie werd beschreven (3, 6). Men kan eventueel screenen naar chinolone-resistentie met een nalidixinezuur-schijfje (6). Resistentie aan doxycycline is uitzonderlijk, cotrimoxazoleresistentie is frequenter (3, 6). Macrolideresistentie is moeilijk in te schatten, veel stammen vertonen een intrinsieke intermediaire gevoeligheid (2). β -lactamase-productie kan eveneens worden opgezocht en is waarschijnlijk voldoende voor isolaten uit niet-diepe sites (2, 3, 5). Voor ernstige infecties zijn dilutiemethodes te verkiezen (1, 5). De stam produceerde een β -lactamase, welke kon worden aangetoond met een nitrocefinetest maar vertoonde een MIC van 1 tot 2 mg/l, zodat hij op basis van enkel dit criterium verkeerdelijk kon beschouwd worden als gevoelig of intermediair gevoelig (5).

M. LONTIE (MCH-Leuven)

Wij danken Dr. F. Crokaert van het microbiologisch laboratorium van het J. Bordet Instituut voor het leveren van deze stam.

REFERENTIES

1. Barry AL, Fuchs PC & Brown SD. 2001. Identification of β -lactamase-negative, ampicillin-resistant strains of *Haemophilus influenzae* with four methods and eight media. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45:1585-1588.
2. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Communiqué 2000-2001. <http://www.sfm.asso.fr/>
3. Hindler JA & Swenson JM. 1999. Susceptibility testing of fastidious bacteria. In Murray PR *et al.* (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press, Washington DC: 1544-1554.
4. Karlowsky JA, Verma G, Zhanel GG & Hoban DJ. 2001. Presence of ROB-1- β -lactamase correlates with cefaclor resistance among recent isolates of *Haemophilus influenzae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 45:871-875.
5. NCCLS. 2001. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Eleventh Informational Supplement. M100-S11, Vol.21 No1.
6. Schito GC, Debbia EA & Marchese A. 2000. The evolving threat of antibiotic resistance in Europe: new data from the Alexander project. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 46, *Topic T1*, 3-9.

2.2 Cultuur M/3064 *Staphylococcus epidermidis*

werd bekomen door de kweek van een peroperatief verwijderde sequester bij een patiënt met chronische osteomyelitis.

Het ging om *Staphylococcus epidermidis* geïsoleerd uit een patiënt met chronische osteomyelitis. De identificatie van de stam was correct voor 223 (91,0%) laboratoria en aanvaardbaar (coagulase-negatieve stafylokok) voor 12 (4,9%) laboratoria. Wat betreft de biochemische kenmerken had deze stam het typische profiel van de species.

S. epidermidis is de overheersende species van de coagulase-negatieve stafylokokken (CNS) in de commensale flora van de gladde huid en behoort tot de flora van het intestinaal en genitaal slijmvlies. Dit is de frequentst geïsoleerde species van CNS uit infecties veroorzaakt door een implantaat (intravasculaire catheter, gewrichts- of hartklepprothese, peritoneale dialysecatheter, enz.) en uit nosocomiale bacteriëmiën. *S. epidermidis* komt ook voor in chronische beeninfecties geassocieerd met osteosynthese materiaal of gelijktijdig met artritis op een prothese (bijvoorbeeld volledige heupprothese).

Het antibiogram voor oxacilline, glycopeptiden en gentamicine werd met verschillende technieken uitgevoerd, en leverde verschillende resultaten op afhankelijk van het laboratorium. Volgens de referentiemethodes, MIC-bepaling door dilutie in een bouillon en PCR voor het *mecA* gen, uitgevoerd door de CDC (Atlanta) en in het laboratorium voor microbiologie, ULB-Erasme, was deze stam resistent tegen penicilline (MIC > 2 mg/l), oxacilline (aanwezigheid van het *mecA* gen en MIC > 16 mg/l), gentamicine (MIC 16 mg/l), ciprofloxacine en ofloxacine (MIC > 8 mg/l). Bijzonder aan deze stam is enerzijds zijn klinische oorsprong, met name een patiënt met bacteriëmie voor wie de behandeling met vancomycine mislukte, en anderzijds zijn intermediaire resistentie tegen vancomycine (MIC 8 mg/l) en teicoplanine (MIC 16 mg/l). Twaalf procent van de resultaten van de gevoeligheidstesten voor oxacilline wijzen op een ernstige fout (oxacilline werd gevoelig beschouwd) (Tabel 4.2.1). Deze fout komt heel vaak voor bij gebruikers van de diffusiemethode met Rosco tabletten (24%).

Het percentage aan mineure discordanties (maar toch van klinisch belang) namelijk dat vancomycine en teicoplanine gevoelig bevonden werden, bedraagt respectievelijk 66% en 41% (Tabel 4.2.1). Voor de glycopeptiden komen vals gevoelige resultaten frequenter voor met vancomycine dan met teicoplanine. Deze onjuiste resultaten komen vaker voor met de diffusiemethode (vooral met Rosco tabletten) en met de systemen ATB en Vitek 1 (Tabel 4.2.2). Het Vitek 2-systeem en de E-test leveren integendeel het verwachte resultaat (I) of een mineure discordantie (R voor I) (Tabel 4.2.2).

Op dit ogenblik is 80 à 90% van de *S. epidermidis* stammen van nosocomiale oorsprong resistent tegen oxacilline en β -lactamines door het verwerven van het *mecA* gen en de expressie van de proteïne met zwakke affiniteit, PLP2a. Deze resistentie wordt door bepaalde stammen van *S. epidermidis* soms heterogeen uitgedrukt, wat heeft geleid tot de invoering van strengere criteria om de gevoelige stammen te kunnen categoriseren (MIC \leq 0.25 mg/l, NCCLS 2000). Deze stam vertoonde een hoog niveau van homogene resistentie tegen oxacilline.

Het opduiken van CNS met een verminderde gevoeligheid voor glycopeptiden is sinds de jaren 1980 in Europa en de V.S. beschreven en dan vooral voor *Staphylococcus haemolyticus* maar ook voor *S. epidermidis*. De expressie van de resistentie is doorgaans heterogeen en de opsporing van dit fenotype heeft te maken met het inoculum en de voedingsbodem die voor de gevoeligheidstest wordt gebruikt. In sommige reeksen ligt het aandeel van *S. haemolyticus* stammen die intermediair of resistent tegen teicoplanine zijn hoger dan 30%. Stammen van CNS met een verminderde gevoeligheid voor glycopeptiden zijn vaker geïsoleerd uit patiënten die lang met glycopeptiden zijn behandeld, in het bijzonder voor peritonitis, wat de peritoneale dialyse bemoeilijkt.

Er is weinig geweten over de mechanismen zoals die van de intermediaire resistentie van *S. aureus* tegen glycopeptiden (GISA). In het algemeen stelt men een verdikking van de celwand en een opeenstapeling van partikels in het cytoplasmamembraan vast, wat in verband wordt gebracht met de expressie van een proteïne van 35-39 kDa.

De vaststelling in het laboratorium van CNS met verminderde gevoeligheid (intermediair of resistent) voor glycopeptiden stelt problemen die worden onderstreept door de resultaten uit deze enquête en stemmen overeen met de gegevens uit de literatuur. Enerzijds kunnen de kritische concentraties verschillen afhankelijk van het referentiecomité (NCCLS, BSAC, CA-SFM), anderzijds zijn meerdere technieken niet gevoelig genoeg, vooral de schijfjesdiffusiemethode. De slechte diffusie van de grotere moleculen, zoals glycopeptiden, en de heterogene expressie van de resistentie beperken de inhibitiezones en bemoeilijken het aflezen. In de praktijk moet van deze methode worden afgestapt om de gevoeligheid van stafylokokken voor glycopeptiden te testen aangezien deze methode geen aanvaardbare correlatie met de MIC-referentiemethodes toont. De nauwkeurigheid van de systemen voor een geautomatiseerd antibiogram varieert al naargelang het systeem en de versie van de galerie of software die wordt gebruikt. In deze enquête worden deze verschillen onderstreept door de goede prestaties van Vitek 2, in tegenstelling tot die van Vitek 1 en ATB.

Voor een betrouwbare opsporing van stafylokokken met een verminderde gevoeligheid voor glycopeptiden, zowel *S. aureus* als CNS, worden de volgende methodes aanbevolen : de commerciële screen media (agar screen) met een kritische concentratie van vancomycine, zoals de BHI-gelose met 6 µg/ml vancomycine, en de kwantitatieve methodes (MIC door dilutie in een vloeibare voedingsbodem, E-test en studie van het populatieprofiel). Voor de 'screeningsgelose' wordt een inoculum van 10 µl McF 0,5 suspensie van 24 uur oude kolonies ten minste 24 uur op 35° geïncubeerd (48 uur voor CNS stammen die traag groeien of voor 'small colony variants').

Voor de MIC van glycopeptiden van *S.aureus* en *S.epidermidis* worden de omstandigheden van de E-test betwist (inoculum, voedingsbodem en incubatietijd). De methode met een McF 0.5 inoculum, gedurende 24 tot 48 uur incubatie op een MH-voedingsbodem, is specifiek voor de opsporing van GISA/GISE en levert een betere correlatie met de dilutiemethode in een bouillon, zoals aanbevolen door NCCLS, dan de methode met een denser inoculum (McF 2) op een BHI-gelose en een incubatietijd van 48 uur. Deze methode wordt aanbevolen door de fabrikant en is vooral nuttig om de hetero-GISA met een

grensgevoeligheid op te sporen maar is weinig specifiek en is erg afhankelijk van de kwaliteit van de voedingsbodem. Voor de MIC van *S. haemolyticus* met E-test lijkt een zwaarder inoculum (McF 4) gerechtvaardigd gezien de hoge frequentie waarmee heteroresistente mutanten in deze species verschijnen. Voor bevestiging worden de populatiestudie en de elektronische microscopie toegepast, maar deze kwantitatieve technieken zijn prijzig en belastend. Zij zijn aangewezen in geval van herhaalde en klinisch significante isolaties van stafylokokken uit diepe monsters, positief in 'vancomycin agar screen' met een mislukte glycopeptiden behandeling. In geval van twijfel kan de resistentie en/of identificatie door het referentielaboratorium voor stafylokokken worden bevestigd. Uit onze ervaring blijkt dat de stammen VISA en VISE volgens de criteria van NCCLS/CDC zeldzaam zijn (< 0,5 %) onder de MRSA en MRSE die sinds 1997 in België worden bestudeerd.

Wij bedanken Dr. Tenover (CDC) voor het ter beschikking stellen van deze stam in het kader van het programma voor de externe kwaliteitsevaluatie van INSPEAR.

Dr. Marc STRUELENS, Dr. Olivier DENIS – ULB – Hôpital Erasme
Referentielaboratorium voor stafylokokken

REFERENTIES

1. Biavasco F, Vignaroli C, Varaldo PE. Glycopeptide resistance in coagulase-negative staphylococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19:403-417.
2. Garrett DO, Jochimsen E, Murfitt K, Hill B, McAllister S, Nelson P et al. The emergence of decreased susceptibility to vancomycin in *Staphylococcus epidermidis*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20:167-170.
3. Sieradzki K, Roberts RB, Serur D, Hargrave J, Tomasz A. Heterogeneously vancomycin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strain causing recurrent peritonitis in a dialysis patient during vancomycin therapy. *J Clin Microbiol* 1999; 37:39-44.
4. Tacconelli E, Tumbarello M, Donati KG, Bettio M, Spanu T, Leone F et al. Glycopeptide resistance among coagulase-negative staphylococci that cause bacteremia: epidemiological and clinical findings from a case-control study. *Clin Infect Dis* 2001; 33:1628-1635.
5. Tenover FC, Lancaster MV, Hill BC, Steward CD, Stocker SA, Hancock GA et al. Characterization of staphylococci with reduced susceptibilities to vancomycin and other glycopeptides. *J Clin Microbiol* 1998; 36:1020-1027.

2.3. Cultuur M/3066 *Yersinia enterocolitica*

Deze kiem werd geïsoleerd uit een stoelgang van een meisje van 10 jaar, met reeds 2 weken diarree, buikkrampen en lichte koorts. Het versturen van het mengsel *Yersinia enterocolitica* en *Escherichia coli* had tot doel het belang van het gebruik van selectieve voedingsbodems voor coproculturen aan te tonen.

Yersinia enterocolitica : voornaamste criteria voor de identificatie en differentiatie met de andere species van het genus :

Gram-negatieve bacil

Over het algemeen lactose-negatief maar er bestaan ook lactose-positieve stammen.

Sacharose : +

Rhamnose : -

Urease : 75% van de stammen is positief maar soms traag

Citraat-negatief

Mobiel bij 25°C maar immobiel bij 37°C.

Y. enterocolitica omvat pathogene en niet-pathogene stammen. In België zijn de pathogene stammen meestal van het serotype O : 3 (biotype 4). Een groot aantal niet-pathogene stammen is van het biotype 1A en esculine-positief.

Uitzicht van de kolonies op verschillende voedingsbodems :

- **Mac Conkey** : kleurloos, diameter < 1mm bij 35-37°C ;
- **Sheep blood agar** : glad, diameter < 1mm bij 35-37°C ;
- **CIN** : 24 uur : doorschijnend, zonder rode kern
 48 uur : donkerroze, doorschijnende randen, diameter van 2 mm bij 28-30°C ;
- **SS** : (Salmonella-Shigella Agar) heel kleine kolonies na 48 uur bij 35-37°C ;
- **Hektoen** : geen differentiatie met andere enterobacteriën door de verzuring van de voedingsbodem (uit te sluiten).

CIN : - Cefsulodin - Irgasan - Novobiocin

- Specifieke voedingsbodem voor de groei van het genus *Yersinia*. Toch groeien *Citrobacter* en *Aeromonas* ook op de voedingsbodem CIN.
- Snellere groei bij 37°C dan bij 25°C : 25°C tot 30°C is de aanbevolen temperatuur voor de primocultuur.
- Omdat is aangetoond dat 85% van de stammen van *Yersinia* op CIN groeien en slechts 48% op SS, is het gebruik van deze specifieke voedingsbodem aanbevolen, hoewel sommige auteurs menen dat het onderzoek van deze enteropathogeen op specifieke voedingsbodems geen gunstige verhouding tussen kostprijs en opbrengst biedt.

N.B. : De Belgische nomenclatuur voorziet in de systematische opsporing van deze pathogeen in coproculturen.

Aangaande de incubatietemperatuur :

Qua metabolisme zijn *Yersinia* actiever bij 25°C dan bij 37°C. De tests voor de biochemische identificatie worden dus het liefst bij 25°C uitgevoerd. Bij 37°C verlopen de reacties trager en soms ook op atypische wijze (bijvoorbeeld negatieve urease bij 37°C). Opgelet, de meeste commerciële identificatiegalerieën zijn bestemd voor abaci van incubaties bij 35-37°C.

Hoewel de virulentiefactoren duidelijker zijn bij 37°C is het mogelijk dat de stammen na meerdere subculturen hun virulentieplasmide op deze temperatuur verliezen.

Biochemische kenmerken van de identificatie van drie *Yersinia*-species

	Ureum	ODC	VP	Cit	Sac	Rha	Mel	Cel
<i>Y. enterocolitica</i>	+	+	+/-	-	+	-	-	+
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	+	-	-	-/+	-	+	+/-	-
<i>Y. pestis</i>	-	-	-	-	-	-	v	-

ODC : ornithinedecarboxylase

VP : Voges - Proskauer

Cit : citraat

Sac : sacharose

Rha : rhamnose

Mel : melibiose

Cel : cellobiose

A. DEDISTE (CHU ST PIERRE-Brussel)

REFERENTIES

1. Manual of Clinical microbiology. Murray P. et al. 7th ed.1999. ASM Press.
2. Précis de bactériologie clinique. Freney J., Renaud F., Hansen W., Bollet C. 3ème éd 2000. Editions Alexandre Lacassagne
3. Kachoris M., Ruoff KL., Weich K., allas W., Ferraro MJ. 1988 Routine culture of stool specimens for *Yersinia enterocolitica* is not a cost-effective procedure. J. Clin Microbiol. 26 : 582-3.
4. Head CB., Whitty DA., Ratnam S., 1982 Comparative study of selective media for recovery of *Yersinia enterocolitica*. J. Clin Microbiol. 16 : 615-21.

2.4. Cultuur M/3029 *Listeria monocytogenes*

De kiem werd geïsoleerd uit verschillende staalafnames van een doodgeboren kind en was een klassieke *Listeria monocytogenes* stam. Een zwangere vrouw meldt zich met klachten van griepale aard met een gevoel van algemene malaise en koorts (39°). Er was geen diarree. Na 2 dagen was de vrouw koortsvrij. Twee dagen na opname (penicilline behandeling) is er een doodgeboorte. Het kind vertoonde over zijn gehele lichaam purpere vlekken.

Tot het genus *Listeria* horen een 7-tal verschillende species, waarvan alleen *L. monocytogenes* pathogeen is (infecties met andere species zijn zeer zeldzaam). Het zijn aerobe Gram-positieve staafjes, die ubiquitair in de natuur zijn verspreid. Occasioneel verwekt *Listeria monocytogenes* infecties bij dieren, en soms bij mensen. Dierlijke en plantaardige voedsel-basisbestanddelen kunnen gecontamineerd zijn. In deze materialen en in klaargemaakt voedsel kunnen overlevende bacteriën toenemen in aantal : ze vermenigvuldigen zich zelfs bij lage temperaturen.

Listeria monocytogenes is niet erg pathogeen : vele stammen die men isoleert uit omgevingskweken zijn niet-ziekmakend. De stammen die infecties veroorzaken behoren meestal tot een beperkt aantal serotypes, maar ook binnen deze serotypes is er een grote variatie in virulentie.

Bij infectie invadeert de bacterie het lichaam via de darm en dit leidt dan tot systeem-infecties : naast allerlei zeldzame focale infecties doet listeriose zich voornamelijk voor bij zwangeren in de vorm van een amnionitis met neonatale infectie en meningitis of meningo-encephalitis bij patiënten met een verminderde weerstand.

De infectie bij de zwangere doet zich voor als een specifiek griepaal syndroom (vaginale kweken zijn negatief). De foetus wordt transplacentair besmet.

Naast sporadische gevallen ziet men *Listeria*-infecties ook in epidemies optreden : deze epidemies worden vaak moeilijk herkend, omdat slechts een klein deel van de besmette personen een infectie krijgen, en het besmette voedsel over grote geografische gebieden is gedistribueerd.

Recent is vastgesteld dat *L.monocytogenes* ook verwekker is van voedselintoxicaties, waarbij vele slachtoffers diarree krijgen, al dan niet met koorts. Epidemies na het eten van besmette slaatjes, chocolade-melk.... zijn beschreven.

2.4.1. Diagnose

Relatief gemakkelijk in normaal steriele materialen. In de praktijk is het niet steeds gemakkelijk snel het verschil te maken met corynebacteriën, enterococcen, GBS, *Erysipelothrix rhusiopathiae*.

Listeria monocytogenes is een Gram-positief staafje, dat β -hemolyse veroorzaakt op bloedagar.

Verdere biochemische en kweek-kenmerken :

- Typische kenmerken zijn de combinatie van positieve resultaten voor : beweeglijkheid, esculine, VP, katalase, CAMP.
- Met commerciële systemen (API, toestellen...) komt men gemakkelijk tot de juiste identificatie.

Er bestaan selectieve bodems om *Listeria* in mengflora's op te sporen. Koude aanrijking wordt vooral gebruikt voor omgevingskweken : dit levert echter ook vele saprofytaire isolaten op.

Er bestaat geen serologische test die nuttig is voor de diagnose bij een individuele patiënt.

2.4.2. Behandeling

De keuze steunt op de activiteit, de intracellulaire aanwezigheid van de bacterie, en gedocumenteerde synergie. Infecties worden behandeld met hoge doses penicilline, ampicilline, cotrimoxazole, al dan niet gecombineerd met een aminoside.

Belangrijk is niet te vergeten dat cefalosporines (1ste tot '4de' generatie) niet werkzaam zijn, waardoor voor meningitis bij bepaalde groepen van patiënten ampicilline moet geassocieerd zijn met een 3de generatie-cefalosporine zolang de infectie niet is gedocumenteerd.

2.4.3. Preventie, Aangifte

Infectie door *Listeria* moet worden gerapporteerd. Geïsoleerde stammen worden best opgestuurd naar het referentie-labo. Hierdoor kunnen epidemische verheffingen worden vastgesteld, wat dan kan leiden tot een onderzoek naar mogelijke bronnen.

G. CLAEYS (UZ - Gent)

Wij bedanken Apr. Biol. Werner De Brauw van het klinisch laboratorium van het AZ H. Hart, Asse, voor het leveren van deze stam.

III. RESULTATEN VAN DE IDENTIFICATIES (N=245)

3.1 Cultuur M/3062 *Haemophilus influenzae* (longaspiraats) N=245

<u>Haemophilus influenzae</u>	235 (95,9)
<u>Haemophilus influenzae type B</u>	3 (1,2)
Haemophilus para influenzae	4
Pasteurella pneumotropica	1
Geen antwoord	2

3.2 Cultuur M/3064

Staphylococcus epidermidis (chronische osteomyelitis) N=245

<u>Staphylococcus epidermidis</u>	221 (90,2)
<u>Coagulase neg. Stafylokokken</u>	12 (4,9)
<u>MRSE</u>	2 (0,8)
Staphylococcus blanc	1
Staphylococcus sciuri	3
Staphylococcus lugdunensis	1
Staphylococcus saccharolyticus	1
Staphylococcus warneri	1
Staphylococcus simulans	1
Staphylococcus aureus	1
Geen antwoord	1

3.3 Cultuur M/3066 *Yersinia enterocolitica* (feces) N=245

<u>Yersinia enterocolitica</u>	238 (97,1)
Yersinia sp.	1
*Yersinia enterocolitica + Escherichia coli	1
Escherichia coli	1
Geen pathogene kiemen	1
Geen antwoord	3

* Men dient enkel pathogene kiemen te vermelden

3.4 Cultuur M/3029

Listeria monocytogenes (stalen van een doodgeboren kind) N=245

<u>Listeria monocytogenes</u>	231 (94,3)
Listeria sp	13
Geen antwoord	1

IV. ANTIBIOGRAM

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

4.1 Cultuur M/3062 *H. influenzae*

aantal deelnemende laboratoria = 245

	Verwacht resultaat	S	I	R	Niet getest
ampicilline	R	10	2	218	15

De onderstaande tabel geeft enkel het brut resultaat weer :

	Verwacht resultaat	S	I	R
ampicilline	R	38	41	132

De volgende methoden werden toegepast :

	Aantal deelnemers
Papieren schijfje, Becton Dickinson	31
Papieren schijfje, bioMérieux	18
Papieren schijfje, Oxoïd	8
Papieren schijfje, ander merk	4
Rosco tablet	103
ATB	18
Vitek 1	1
E-test	19

De resultaten 'intermediair' werden bekomen met het papieren schijfje van bioMérieux, diameter = 20 mm en de rosco tablet, diameter =24 mm.

De resultaten 'gevoelig' werden bekomen door 8 deelnemers met de rosco tablet en volgende inhibitiezones werden vermeld: 0, 22 (3 deelnemers), 24, 28, 32, 38, 1 deelnemer gebruikte een papieren schijfje van een niet vermeld merk en bekwam een diameter 24 mm, en 1 deelnemers paste het ATB systeem toe.

4.2. Cultuur M/3064 S. epidermidis
aantal deelnemende laboratoria = 245

4.2.1. Voorstelling van de resultaten

Antibioticum	Referentie resultaat MIC (mg/l) [categorie]		Aantal antwoorden		
			S	I	R
Penicilline	>2	[R]	0	0	255
Oxacilline	>16	[R]	32	2	232
Vancomycine	8	[I]	181	61	32
Teicoplanine	16	[I]	83	76	42
Clindamycine	0.25	[S]	231	0	8
Gentamicine	16	[R]	29	47	162
Ciprofloxacine	>8	[R]	1	0	127
Anderen FQ	>8	[R]	2	0	114

V. PARASITOLOGIE

5.1. De monsters

Elke deelnemer ontving een fecessuspensie P/3126.

Het monster werd vergezeld van de volgende klinische informatie :
Recidiverende diarree bij een HIV seropositief kind.

5.2. De resultaten

Aantal deelnemende laboratoria: 229

Tabel 1. Volgende resultaten werden gerapporteerd :

Parasiet	Aantal labo's
<i>Cryptosporidium sp</i>	186
<i>Cyclospora sp.</i>	8
<i>Entamoeba hartmanni</i>	1
microsporidia	7
<i>Ascaris lumbricoides</i>	2
<i>Schistosoma mansoni</i>	1
<i>Paragonimus westermani</i>	1
Geen parasieten gevonden	23
Onbekende code	1
Totaal	230

Meerdere ontwikkelingsstadia werden vermeld : ei (5), cyste (9), oocyste (175), sporocyste (13), geen stadium vermeld (33).

De aanwezigheid van Microsporidia werd bevestigd door het laboratorium voor parasitologie van Prof. Danis, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris. Microsporidia maakte geen deel uit van deze evaluatie.

5.3. Cryptosporidium parvum

Het betreft een coccidium waarvan de diagnose in feces berust op de identificatie van sferische oöcysten met een diameter van 5 µm. De rijpe oöcysten bevatten sporozoïeten.

In een biopsie van het gastro-intestinale slijmvlies kunnen de intracellulaire stadia worden aangetoond. In dat geval volstaat de gebruikelijke kleuring met hematoxyline-eosine.

Het aantal oöcysten in de feces houdt rechtstreeks verband met de consistentie van de feces : hoe vloeibaarder de feces, hoe meer oöcysten zij bevatten.

De afscheiding van de parasiet gebeurt met tussenpozen en kan dus van dag tot dag variëren. Om de diagnose te kunnen stellen moeten over verschillende dagen drie fecesstalen worden afgenomen. Het strekt ook tot aanbeveling om per patiënt ten minste zes objectglaasjes te onderzoeken. De diameter van de oöcyst van *Cryptosporidium* is bijna dezelfde als die van een gist.

5.3.1. Laboratoriumdiagnose

Op verse feces of in de gebruikelijke bewaarvloeistof : 5 tot 10% formol, SAF (Sodium Acetate - Acetic acid - Formaldehyde) of PVA (Polyvinyl Alcohol), bijvoorbeeld. Om bioveiligheidsredenen geniet het gebruik van een dergelijke oplossing de voorkeur. Vóór de uitvoering van gelijk welke andere diagnoseprocedure (microscopische of immunologische) wordt 10 minuten centrifugeren tegen 500 g aanbevolen.

5.3.2. Microscopie

Aantoonbaarheidsgrens : 50.000 oöcysten per gram feces. Vóór het microscopisch onderzoek worden de feces volgens de techniek van Richie of een verwante methode geconcentreerd.

5.3.3. Kleuringen

De gebruikelijke permanente kleuringen (Trichroom, Hematoxyline-IJzer) zijn niet geschikt voor de oöcysten van *C. parvum*.

Lugol : nauwelijks zichtbare en niet-lichtbrekende oöcysten.

Auramine - Rhodamine : oöcysten met een gele fluorescentie. Niet-specifieke kleuring met een zwakke gevoeligheid en specificiteit, maar een degelijke opsporingsmethode. De diagnose moet worden bevestigd door een acido-resistente kleuring of door monoclonale reagentia die gevoeliger zijn, in het bijzonder wanneer de feces veel andere cellen of artefacten bevat.

Ziehl - Neelsen : roze of rode oöcysten op een groenachtige achtergrond. De gisten zijn groen.

Acid fast Trichrome (4) : rode oöcysten op een blauwe of lichtgroene achtergrond.

Modified Kinyoun's acid fast stain (2) : fel roze oöcysten op een lichtgroene achtergrond.

Er zijn ook andere kleuringen beschreven (6).

5.3.4. Immunologische testen

Rechtstreekse IF met fluorescente monoclonale antilichamen. Uitstekende gevoeligheid en specificiteit. Er bestaan gecombineerde diagnosesystemen voor *C. parvum* en cysten van *Giardia lamblia*.

ELISA op feces gefixeerd in formol. Uitstekende gevoeligheid en specificiteit.

Vergelijking van verschillende commerciële kits : (3)

A. DEDISTE (CHU ST PIERRE-Bruxelles)

REFERENTIES

1. Garcia L., Bruckner D. Diagnostic Medical Parasitology. 3rd edition 1997. ASM Press. Washington DC.
2. Isenberg H. (Ed in chief). Clinical Microbiology Procedures Handbook. 1992. ASM Press. Washington DC.
3. Garcia L, Shimizu R. Evaluation of Nine Immunoassay Kits for Detection of *G. lamblia* and *C. parvum* in Human Fecal Specimens. JCM 1977. 35(6) : 1526-29.
4. Clark D. New Insights into Human Cryptosporidiosis. CMR 1999. 12(4) : 554-563.
5. Ignatius R. et al. A New Acid Fast Trichrome Stain for Simultaneous Detection of *Cryptosporidium parvum* and Microsporidial Species in Stool Specimens. JCM 1977. 35(2) : 446-9.
6. Mac Pherson D. and Mc Queen R. Cryptosporidiosis : Multiattribute Evaluation of six Diagnostic Methods. JCM 1993. 31(2) : 198-202.

VI. SEROLOGIE

6.1. Opsporen van antistoffen tegen HIV

6.1.1. Beschrijving van de monsters

Drie vloeibare geïnactiveerde en getrombineerde plasmamonsters werden uitgestuurd :

- S/ 3180 is een positief monster
- S/ 3181 is een negatief monster
- S/ 3182 is een positief monster

6.1.2. De deelnemers

In het totaal namen 235 laboratoria deel aan deze enquête.

6.1.3. Gebruikte reagentia

Volgende tabel geeft weer in aantal welke reagentia door de deelnemers gebruikt werden :

Fabrikant	Reagens	S/3180 N = 274	S/3181 N = 266	S/3182 N = 276
Abbott	Imx HIV-1/HIV-2 III PLUS	5	5	5
	PRISM HIV 0 Plus	1	2	2
	DETERMINE HIV1/2	5	5	5
	HIV-1/2gO EIA	4	4	4
	AxSYM HIV-1/2gO	107	108	108
	Murex HIV-1.2.O	6	5	6
Behring	Enzygnost anti-HIV 1/2 PLUS	3	3	3
	Enzygnost HIV integral	8	8	8
bioMérieux	VIDAS HIV DUO	78	72	78
	VIDAS HIV p24	2		2
Biotest	Biotest HIV Tetra Kit	4	4	4
Innogenetics	INNO LIA HIV confirmation	1		1
Organon	Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab	10	10	10
Ortho	HIV/HIV2 Ab Capture Elisa test	4	4	4
	Vitros immunodiagnostics products anti HIV 1+2	13	13	13
Sanofi Pasteur	Access HIV 1/2 new	21	21	21
	Genscreen HIV 1/2 Version 2	1	1	1
Fujirebio	Serodia HIV 1/2	1	1	1

Meerdere testen werden uitgevoerd op de monsters.
Voor de positieve monsters S/3180 en S/3182 zijn deze als volgt;

Aantal testen	1	2	3
Aantal laboratoria	198	35	2

6.1.4. Resultaten

6.1.4.1. Verdeling van de resultaten voor het monster S/3180 (Positief)

Op een totaal van 274 ingestuurde resultaten, werden 267 positieve en 5 negatieve resultaten genoteerd, 2 laboratoria vermelden geen resultaat (zij bekwamen een 'invalid' resultaat). Van de 5 negatieve resultaten werden door 2 laboratoria het resultaat van een Ag P24 bepaling vermeld ('invalid' resultaat). De 3 andere negatieve resultaten waren vals negatief. Dit monster zou door 213 laboratoria worden doorgestuurd naar een referentie laboratorium, 21 laboratoria zouden het niet doorsturen.

6.1.4.2. Verdeling van de resultaten voor het monster S/3181 (Negatief)

Op een totaal van 266 ingestuurde resultaten, werden 256 negatieve resultaten genoteerd, 8 vals positieve, 1 borderline en 1 laboratorium vermeldde geen resultaat. Dit monster zou door 223 laboratoria niet worden doorgestuurd naar een referentie laboratorium, 10 zouden het wel doorsturen. Van deze 10 laboratoria antwoordden 6 positief, 1 borderline, 2 negatief en 1 gaf geen resultaat. Van de 8 laboratoria die een vals positief resultaat opgaven, zouden 2 hun monster niet doorsturen naar een referentielaboratorium.

6.1.4.3. Verdeling van de resultaten voor het monster S/3182

Op een totaal van 276 ingestuurde resultaten, werden 272 positieve, 3 negatieve resultaten, waarvan 1 vals negatief en 2 AgP24 bepalingen ("invalid"), en 1 borderline resultaat genoteerd. Dit monster zou door 217 laboratoria naar een referentielaboratorium worden opgestuurd, 18 zouden het niet doen.

De onderstaande tabel geeft weer met welke reagentia de afwijkende resultaten bekomen werden :

Reagentia	S/3180:positief		S/3181:negatief		S/3182:positief	
	border	negatief	border	positief	border	negatief
Vidas HIV Duo, bioMérieux		1	1		1	
AxSYM HIV 1/2gO, Abbott		2		5		1
Imx HIV1/HIV2 III Plus, Abbott				1		
Access HIV 1/2 new, Sanofi Pasteur				1		
Vitros immunodiagnosics products anti HIV1+2, Ortho				1		

*Twee deelnemers gaven het resultaat van de antigen bepaling!!

Deze enquête echter vraagt enkel het opsporen van de anti-HIV antilichamen.

Onder deze resultaten:

- Antwoorde 1 laboratorium negatief voor het positieve monster S/3180, borderline voor het negatieve monster S/3181 en borderline voor het positieve monster S/3182 Dit laboratorium gebruikte een VIDAS HIV duo van bioMérieux.
- Een ander laboratorium antwoordde positief voor het monster S/3181 en negatief voor het monster S/3182. Dit zou eventueel te wijten zijn aan een omwisseling van monsters of een transcriptie fout! Dit is even erg dan een technische fout.

6.1.5. Commentaar op de resultaten van het onderzoek

- De kwaliteitscontrole vraagt niet de uitvoering van een Ag p24 maar wel de opsporing van HIV-antilichamen ! De resultaten die met deze test negatief bevonden werden, moeten als inadequaaf worden beschouwd, zij beantwoorden niet aan de vraag. In een klinische situatie waarin de voorschrijver de opsporing van antilichamen verlangt, biedt het 'negatieve' resultaat van een Ag p24 geen antwoord op de vraag en kan bovendien leiden tot een foutieve besluitrekking. Het opsporen van antilichamen binnen de 4 tot 6 weken na een besmettingsrisico, blijft de beste opsporingsmethode. De diagnose van de HIV infectie kan worden aangevuld met een Ag p24 test en/of in bepaalde omstandigheden met een onderzoek van het virus genoom.
- Alle resultaten die door de opsporingstests positief zijn bevonden, moeten naar een aidsreferentielaboratorium worden verstuurd en het meedelen van het resultaat aan de voorschrijver moet gebeuren in het licht van het antwoord van het aidsreferentielaboratorium. Ter verbetering van de kwaliteit is het nuttig om het staal samen met informatie (technieken, OD, ...) over de bekomen resultaten naar het aidsreferentielaboratorium te versturen.

- Om belangrijke epidemiologische informatie voor de opvolging van de epidemie te kunnen blijven verschaffen, moeten de laboratoria de voorschrijvers aansporen om de formulieren ad hoc correct in te vullen.
- De resultaten zijn niet goed. Inderdaad, 1% van de laboratoria diende vals negatieve resultaten in, wat ontoelaatbaar is gezien de performanties van de huidige tests. Dit stelt de kwaliteit van deze laboratoria in vraag.

D. THULL –SONDAG, M. VAN RANST, P. GOUBAU (voor het college van laboratoria)

6.2. SYPHILIS SEROLOGIE

6.2.1. Beschrijving van de monsters

Drie vloeibare geïnactiveerde en getrombineerde plasmamonsters werden uitgestuurd, dezelfde als voor de HIV serologie

- S/ 3180 is een positief monster
- S/ 3181 is een negatief monster
- S/ 3182 is een negatief monster

6.2.2. Beschrijving van de monsters

In het totaal namen 211 laboratoria deel aan deze enquête.

6.2.3. Gebruikte reagentia

Volgende tabel geeft weer in aantal welke reagentia door de deelnemers gebruikt werden :

Fabrikant	Reagens	S/3180 N = 274	S/3181 N = 266	S/3182 N = 276
Fujirebio	Serodia-TPPA	116	114	116
Becton Dickinson	Macro-vue RPR	17	17	16
Behring	Cellognost	19	19	18
	Enzygnost Syphilis	8	7	7
	VDRL Cardioliipin antigen	5	5	5
bioMérieux	RPR slide test	36	35	35
	TPHA kit	1	1	1
	Trepo Spot IF	34	26	28
	Trepo Spot IFG	4	3	2
	Trepo Spot IFM	5	3	2
Biorad	TPHA-kit	1	1	1
	VDRL Latex	1	1	1
DiaSorin	ETI-Syphilis IgG	1	1	1
	ETI-Syphilis IgM	1	1	1
	Enzywell syphilis screen	1	1	1
Reaction Spinreact	RPR carbon	38	37	38
	FTA-ABS	1	1	1
Cambridge	RPR slide test	2	2	2
	TPHA kit	1	1	1
Murex	RPR slide test	23	23	23
	Syfacard	14	14	15
	Syphilia VDRL	1	1	0
	Syphilia TPHA	4	4	4
	TPHA kit	10	10	10
	VDRL Cardioliipin Antigen	10	10	10
	Wellcosyph	8	8	8

Diagast	VDRL microgast	3	3	3
	SypalCB	2	2	2
Biokit	RPR reditest	10	9	9
	Syphagen	12	11	11
Instrumentation laboratory	RPR slide test	2	2	2
	TPHA kit 999	2	2	2
		1	1	1
Omega	ImmutrepRPR	10	10	10
	ImmutrepTPHA	3	3	1
Shield	MicrosyphTP	8	8	8
	Syphscreen	15	15	15
Oxoid	VDRL latex	2	2	2
	TPHA kit	2	2	2
Sanofi pasteur	VDRL latex	1	1	1
Trinity	Captia syphilis G	2	2	2
Euroimmun	FTAabs	2	2	2
Innogenetics	InnoTPPHA	3	3	3
Olympus	PKOlympus	1	1	1
Medigal	RPRslide test	1	1	1
Abbott	SyphilisTPDetermine	1	1	1
Meddens	T pallidum IgM	1	1	1
Lorne laboratories	TPHA kit	1	1	1
Immucor	TPHA kit	1	1	1
999	999	1	1	1
999	RPR slide test	2	1	1
999	TPHA kit	2	2	2

De onderstaande tabel geeft per monster het aantal deelnemers per methode :

	TPHA & TPPA	RPR & VDRL	FTA	EIA	andere
S/3180	194	195	46	14	2
S/3181	191	190	35	13	2
S/3182	190	191	35	13	2

Op elk monster werden frequent meerdere testen uitgevoerd.

6.2.4. Resultaten

Voor het positieve monster S/3180 is de verdeling van het aantal testen en foutieve antwoorden (negatief en borderline) als volgt:

Aantal testen	1	2	3	4	5
Aantal laboratoria	14	159	32	5	1
Aantal foutieve antwoorden	1 labo met 1 fout	8 labo's met 1 fout 1 labo met 2 fouten	1 labo met 1 fout 1 labo met 2 fouten	1 labo met 1 fout	

Voor de negatieve monsters S/3181 en S/3282 zijn de verdelingen van het aantal testen en foutieve antwoorden (positief en borderline) als volgt :

Aantal testen	1	2	3	4
Aantal laboratoria	15	165	26	3
Aantal foutieve antwoorden S/3181	2 labo's met 1 fout	9 labo's met 1 fout 1 labo met 2 fouten	3 labo's met 1 fout	
Aantal foutieve antwoorden S/3182	1 labo met 1 fout	4 labo's met 1 fout		

De volgende tabel geeft de resultaten per monster weer :

	S/3180 N=432	S/3181 N=426	S/3182 N=426
sterk positief	288		
positief	129	8	4
borderline	3	8	1
negatief	12	410	421

De onderstaande tabel vermeldt met welke reagentia de afwijkende resultaten bekomen werden :

Reagentia	S/3180		S/3181		S/3182	
	border	negatief	border	positief	border	positief
SyphscreenShield		3	2			2
Cellognost, Behring		1				
ImmutrepRPR, Omega		1				
RPR slide test, bioMérieux	1	1	1			
RPR slide test, Instrumentation laboratoires		1				
RPR slide test, Murex		1				
RPR reitertest, Biokit		1				
Serodia-TPPA, Fujirebio	1	1		2		2
ETI-Syph IgM, Diasorin		1				
VDRL latex, Sanofi Pasteur		1				
Trepo-spot IF, bioMérieux			3	2		
Trepo-spot IFIg, bioMérieux	1					
OlympusPK, Olympus				1		
RPRcarbon, Reaction Spinreact			1	2		
TPHA kit, Cambridge				1		
Macro-vue RPR test, Becton Dickinson			1			
TPHAKit, Murex					1	

De onderstaande tabel geeft het aantal foutieve resultaten (het antwoord borderline werd als foutief aanzien) per methode ten opzichte van het totaal aantal gebruikers van de methode :

	TPHA & TPPA	RPR & VDRL	FTA	EIA	andere
S/3180	3/192	10/193	1/46	1/14	0/2
S/3181	3/191	7/190	5/35	0/13	1/2
S/3182	3/190	2/191	0/35	0/13	0/2

6.3. Bespreking

6.3.1. Inleiding

Syfilis wordt veroorzaakt door *Treponema pallidum*. Syfilis is een seksueel overdraagbare aandoening. De ziekte verloopt over 3 verschillende stadia.

Bij de diagnostiek van syfilis is het niet alleen noodzakelijk om de diagnose te stellen maar ook om het stadium van de ziekte te bepalen. Het stadium van de ziekte zal de therapie beïnvloeden. Met een serologie alleen kan men echter onmogelijk het stadium

van de infectie bepalen. Serologie en kliniek moeten samen worden geïnterpreteerd.

De testen die gebruikt worden voor de syfilis serologie kunnen onderverdeeld worden in twee types van gebruikte testen: enerzijds de treponemale testen, en anderzijds de niet treponemale testen.

6.3.2. Niet treponemale testen

Niet treponemale testen zijn gebaseerd op het feit dat geïnfecteerde patiënten ook antistoffen ontwikkelen gericht tegen cardiolipine, een niet treponemaal antigeen.

De meest gebruikte niet treponemale testen zijn de VDRL (venereal disease reference laboratory) test, en de RPR (rapid plasma reagine) test

Deze testen zijn agglutinatie testen waarbij het cardiolipine gebonden is aan een partikel. De sensitiviteit van deze testen is hoog. Maar hun specificiteit is laag.

In regel worden deze testen positief tussen de 1 à 4 weken na het eerste teken van infectie (sjanker). De reactiviteit is minder hoog bij late vormen (tertiaire) van syfilis. Gezien hun lage specificiteit moeten we rekening houden met veel vals positieve reacties o.a.: bij infecties met andere treponema's, auto-immuunziekten, andere infecties enz

6.3.3. Treponemale testen

In tegenstelling tot de niet treponemale testen sporen we met deze testen specifieke antilichamen op tegen *T. pallidum*. Veel gebruikte testen zijn: TPH[P]A (Treponema pallidum hem-[particle-] agglutinatie) test; FTA (fluorescent treponema antibody) test. Ook maar minder gebruikt: Elisa, immunoblot.

De TPI (Treponema pallidum immobilisatie) test, vroeger als referentie gebruikt, is praktisch volledig verdwenen als confirmatie test. De specificiteit was niet beter dan de andere treponemale testen, en de uitvoering van de techniek vergde een specifieke infrastructuur

Bij vroege stadia (1^{ste} en 2^{de} stadium) is de gevoeligheid van de treponemale testen vergelijkbaar met deze van de niet treponemale testen. FTA zou iets sneller positief worden dan TPP(H)A. De treponemale testen blijven positief bij laattijdige (tertiaire) stadia.

De specificiteit van de treponemale testen is beter dan deze van de niet treponemale testen maar toch zijn vals positieve reacties mogelijk.

6.3.4. Gebruik van de syfilis serologie

De serologie van syfilis wordt gebruikt als diagnostisch middel en voor het opvolgen van de patiënt na het instellen van een anti-treponemale therapie.

6.3.4.1. Diagnostisch

Niet treponemale testen zijn goedkoop en snel, en zijn uitstekend geschikt voor het gebruik als screeningstest. Door hun lagere specificiteit moet iedere positieve niet treponemale test steeds geconfirmeerd worden met een treponemale test.

Treponemale testen worden gebruikt voor het confirmeren van een positieve niet treponemale test.

6.3.4.2. Opvolging van de therapie

Eenmaal de diagnose van een syfilis werd gesteld en bevestigd moet het effect van de therapie worden geëvalueerd. Dit gebeurt door het opvolgen van de antilichaamtiters. Bij een efficiënte therapie zal de antilichaamtiter van de NTT met minstens 2 diluties dalen gedurende het eerste jaar na de behandeling. Het vergelijken van de titers moet gebeuren op gepaarde stalen (gelijktijdig uitvoeren van initiële staal en het nieuwe staal).

De treponemale testen kunnen niet gebruikt worden voor het volgen van de therapie. Deze testen dalen zeer traag na het instellen van de therapie. Hoe meer tijd er verlopen is tussen infectie en therapie hoe trager de titers zullen dalen. Indien de behandeling in het secundaire stadium van de infectie wordt gestart, zullen in de meeste gevallen de titers van de treponemale testen niet meer negativeren.

6.3.4.3. Interpretatie van de syfilis serologie

De interpretatie van een syfilis serologie is niet altijd eenvoudig. Ze vergt een samenspraak tussen de clinicus en het laboratorium. Een goede anamnese van de patiënt is geen overbodige luxe. Vaak zal de patiënt, al dan niet na aandringen van de arts, een melding maken van een "vroegere behandelde infectieziekte" met intramusculaire inspuitingen. Bij de interpretatie van een positieve serum zal men steeds treponemale en niet treponemale test samen interpreteren.

6.3.4.4. Hier volgen enkele veel voorkomende problemen

Een lage titer in een van de twee testen :

Vaak is dit een niet specifieke reactie of een "rest"titer van een correct behandelde syfilis.

Steeds controleren om een eventuele seroconversie of titerstijging niet te missen.

Een lage titer in zowel de treponemale als in de niet treponemale testen

Dit kan wijzen op :

een beginnende infectie. (stijgen in titers bij controle staal)

een aspecifieke reactie (titers blijven stabiel laag)

een rest titer van een vroegere correct behandelde syfilis. (belang van goede anamnese)

Hoge titers in treponemale en niet treponemale testen

Wijzen in de richting van een actieve syfilis, of een recente correct behandelde syfilis. Indien een recente infectie niet met zekerheid kan worden uitgesloten is het aan te bevelen om een therapie in te stellen.

Informatie naar de patient

Het kan nuttig zijn om de patiënt te informeren dat zijn syfilis serologie levenslang positief kan blijven, en dat hij in de toekomst hierover waarschijnlijk vragen zal krijgen indien er bloed wordt afgenomen.

Dergelijke informatie kan het interpreteren van serologie op toekomstige stalen sterk vereenvoudigen.

Co-infectie HIV Syfilis

Co-infecties met verschillende seksueel overdraagbare aandoeningen komen frequent voor. Indien een diagnose van SOA wordt gesteld is het dus aangewezen om ook andere SOA's op te sporen. Bij deze patiënt konden we dus een co-infectie aantonen met het HIV virus.

6.3.5. Onderzochte stalen

Men vraagt de bepaling van serologie voor HIV en syfilis.

De analyse van de resultaten werden verricht volgens type van test en er werd geen globale interpretatie verwacht.

Serumstaal 3180 is afkomstig van een HIV patiënt met een primaire syfilis. De patiënt vertoonde enkele maanden voordien nog een negatieve syfilis serologie. S/3180 vertoonde een hoog positieve titer voor zowel de treponemale als voor niet treponemale testen.

De serumstalen 3181 en 3182 waren negatief.

6.3.6. Bespreking syfilis resultaten

6.3.6.1. S/3180

10 labo's gaven een verkeerd antwoord in de niet treponemale test. Deze foutieve resultaten werden bekomen met zowel RPR als VDRL en dit van verschillende producenten. De reden van vals negatieve resultaten bij agglutinatie testen kan te wijten zijn aan het prozone fenomeen. Dit is het fenomeen dat kan optreden wanneer serumstalen met hoge serumtiters worden getest. Dit uit zich in een negatief resultaat wanneer een lage serumverdunding wordt getest maar een positief resultaat wanneer hogere serumverdundingen worden getest.

De meest gebruikte treponemale test was de TPHA of TPPA test. Bij de TPHA worden er rode bloedcellen geagglutineerd, bij de TPPA (gelatine) partikels. 3 labo's op de 192 die een TPP(H)A uitvoerden op staaltje 3180 hadden een vals negatief of borderline positief resultaat. Van de 46 labo's die FTA uitvoerden was er 1 foutief. Agglutinaties zijn vaker onderhevig aan het prozone fenomeen dan fluorescentie testen. Maar ook fluorescentie testen kunnen hieraan onderhevig zijn.

Om na te gaan of een vals negatief resultaat te wijten is aan het prozone fenomeen kunnen labo's die een negatieve syfilisserologie vonden op S3180 een nieuw staaltje aanvragen op het WIV. Het staaltje moet dan in opeenvolgende verdunningen worden getest; zo kan men nagaan in welke mate de gebruikte test onderhevig is aan het prozone fenomeen.

6.3.6.2. S/3181 en S/3182

Deze sera gaven een negatief resultaat zowel in de treponemale als in de niet treponemale testen. Positieve resultaten werden gevonden in resp. 16 en 5 testen. (zij kunnen evenzeer te wijten zijn aan manipulatiefouten)
Een labo had een foutief resultaat in de twee gebruikte testen.

6.3.6.3. Opmerking

Een positief resultaat in een NTT moet steeds geconfirmeerd worden met een TT. Laboratoria die enkel een NTT uitvoeren en die een positief resultaat vinden moeten dit staal doorsturen naar een (referentie) labo ter confirmatie.

6.3.6.4. Juiste antwoorden

Juiste antwoorden zijn:

S/3180 : positief en hoog positief
S/3181 en S/3182 : negatief

Foute antwoorden:
Alle andere antwoorden

A. NAESSENS (UZ - Jette)