

I. ALGEMENE BEMERKINGEN

Voor de derde evaluatie van het jaar 2002 (enquête 2002/3) werd volgend materiaal verzonden op 7 oktober 2002.

1.1. **Vier gelyofiliseerde monsters** voor identificatie.

Voor 2 monsters werden de resultaten van de gevoeligheidstesten gevraagd.

1.2. **Twee fecessuspensies in formol** voor parasitologisch onderzoek.

1.3. **Drie gevriesdroogde plasmamonsters** voor het opsporen van antistoffen tegen HIV.

AANTAL DEELNEMERS

Het aantal evalueerbare antwoordbulletins bedroeg :

- | | |
|--|-----|
| 1. Voor identificatie en antibiogram : | 229 |
| 2. Voor parasitologie : | 217 |
| 3. Voor de serologie : | 221 |

II. IDENTIFICATIES

2.1 Cultuur M/2623 was een *Erysipelothrix rhusiopathiae*

Deze stam werd geïsoleerd uit een geïnfecteerde bunzingbeet.

In 1995 werd bij de externe kwaliteitscontrole ook een *E. rhusiopathiae* rondgestuurd.

De resultaten van identificatie zijn vergelijkbaar, 92 % juiste antwoorden in 1995 en 93 % juiste antwoorden in 2002.

Taxonomie en identificatie

Het genus *Erysipelothrix* bevat slechts één pathogene species voor de mens, *E. rhusiopathiae* en één niet pathogene species *E. tonsillarum*. De oude benaming *E. insidiosa* voor *E. rhusiopathiae* wordt best niet meer gebruikt.

E. rhusiopathiae is een gram positieve onbeweeglijke staafvormige bacterie. Bij microscopisch onderzoek zijn er twee vormen: enerzijds korte staafjes (0.2 tot 0.5 µm breed en 0.8 tot 2.5 µm lang) met ronde uiteinden, die apart liggen of in korte ketens en anderzijds lange niet vertakte filamenten (60µm of langer). Ze ontkleuren gemakkelijk bij gramkleuring waardoor ze zich kunnen voordoen als gramnegatieve staven met grampositieve korrels. Onderscheid met echte gramnegatieven is soms moeilijk. Een commerciële aminopeptidase test kan hierbij helpen.

E. rhusiopathiae is facultatief anaëroob met optimale groei in een atmosfeer met 5 tot 10 % CO₂. Na 24 uur is er groei van kleine (0.3 tot 1.5 mm) α-hemolytische kolonies op bloedagar. Na 48 uur incubatie kan men bij eenzelfde stam twee kolonietypes onderscheiden. Enerzijds vormen ze kleine grijsachtige gladde kolonies met gave randen van het type "Smooth", die bij microscopisch onderzoek overeenkomen met korte staafjes. Anderzijds vormen ze grotere platte kolonies, met een opaak uitzicht en gekartelde rand en met onregelmatig oppervlak van het "Rough" type, die bij microscopisch onderzoek overeenkomen met lange filamenten.

E. rhusiopathiae vergist glucose zwak zonder gas, is katalase en oxidase negatief en hydrolyseert esculine niet. Op Kligler en TSI wordt typisch H₂S geproduceerd. Zij is resistent aan vancomycine en colistine.

Aan de hand van deze kenmerken is het mogelijk *E. rhusiopathiae* te onderscheiden van enterokokken, *Lactobacillus spp.*, *Corynebacterium spp.*, en *Listeria spp.*

In tegenstelling tot *E. rhusiopathiae* vergist *E. tonsillarum* sucrose.

Commerciële identificatiesystemen zoals API coryne en Vitek identificeren *E. rhusiopathiae* gewoonlijk correct.

Klinische betekenis

E. rhusiopathiae komt wijd verspreid voor in de natuur, namelijk in de grond en in organisch materiaal in ontbinding. Ze komt voor als commensaal en/of pathogeen bij een groot aantal diersoorten. De bacterie vindt men vooral bij varkens en kalkoenen, in het bijzonder ter hoogte van tonsillen en darm.

Bij de mens veroorzaakt *E. rhusiopathiae* vooral erysepeloïd, een gelokaliseerde cellulitis die zich ontwikkelt binnen 2 tot 7 dagen rond de plaats van besmetting. De ziekte wordt meestal opgelopen via huidbeschadiging, verwonding of een beet ter hoogte van handen of armen bij personen die met dieren of dierlijke producten in aanraking komen. De ziekte komt vooral voor bij mensen die beroepsmatig veel in contact komen met dieren, b.v. dierenartsen, slaggers en vissers.

E. rhusiopathiae kan ook worden teruggevonden bij wondinfecties na een kattenbeet. Over de rol van *E. rhusiopathiae* bij wondinfecties na een bunzingbeet werd in de literatuur niets gevonden.

Een veralgemeende vorm met algemene verschijnselen (koorts, gewrichtspijnen, ...) en negatieve hemoculturen kan voorkomen.

Een ernstige infectie met positieve bloedkweek, dikwijls gepaard met endocarditis ziet men vooral voor bij immuun gecompromitteerde personen.

Bacteriologische diagnose

Voor de bacteriologische diagnose van erysepeloïd wordt best een biopsie genomen aan de rand van het letsel. Dikwijls is aanrijking en langdurige incubatie (tot 7 dagen) nodig.

In het algemeen is microbiologisch onderzoek van infecties na beetwonden vrij moeilijk omdat dikwijls verschillende soorten bacteriën en minder courante bacteriën worden gevonden.

Gevoeligheid aan antibiotica

E. rhusiopathiae is meestal gevoelig aan penicillines, cefalosporines, clindamycine, tetracyclines, erythromycine en fluoroquinolones. Zij is gewoonlijk resistent aan aminoglycosiden, sulfonamiden en vancomycine. Penicilline geniet de voorkeur bij behandeling.

Koen MAGERMAN (Virga Jesse, Hasselt)

REFERENTIES

1. C. Trollin, globaal rapport externe kwaliteitsevaluatie, enquête 02/1995
2. J. Bille, et al., 1999. *Listeria, Erysipelothrix, and Kurthia*. In Murray PR et al. (eds). Manual of Clinical Microbiology, ASM Press, Washington DC: 352-353
3. F. Fenollar et al., 2000. Comparison of a commercial disk test with vancomycine and colimycin susceptibility testing for identification of bacteria with abnormal gram staining reactions. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 19 (1): 33-38
4. D.A. Talan et al., 1999. Bacteriologic analysis of infected dog and cat bites. New England Journal of Medicine, 340 (2): 85-92

2.2 Cultuur M/3753 *Campylobacter jejuni*

Inleiding

Campylobacter is na *Salmonella* de 2e oorzaak van bacteriële diarree in België.¹ Diarree ten gevolge van *Campylobacter* is meestal weinig uitgesproken, beperkt in tijd en vereist geen behandeling met antibiotica.² Als een antibioticatherapie vereist is (ernstige infecties, kinderen op jonge leeftijd, oudere patiënten, immuungedeprimeerden), zijn macroliden of fluorochinolones de aangewezen antibiotica. *Campylobacter jejuni* en *Campylobacter coli* zijn de species die het meest frequent geïsoleerd worden uit stoelgang (> 90% der gevallen).

Het genus *Campylobacter* bestaat uit gram negatieve bacteriën, katalase (+), spiraalvormig, microaërofiel (groeit in een CO₂-rijke omgeving met beperkte aanwezigheid van zuurstof) en thermofiel (goede groei op 42°C).

Om ze te isoleren wordt meestal gebruik gemaakt van selectieve media die antibiotica bevatten. Sommige species, die minder vaak aangetroffen worden bij diarree zoals *C. upsaliensis*, zijn gevoelig voor de antibiotica die aanwezig zijn in deze media en/of worden geïnhibeed bij 42°C. Om deze *Campylobacter* te isoleren, wordt aangeraden om een kweek door middel van passieve filtratie uit te voeren. De cultuurbodem wordt bedekt met een acetaatcellulosefilter waarvan de poriën een grootte van 0.45 tot 0.65 µm hebben. Vervolgens brengt men op het oppervlak van de filter enkele druppels van een stoelgang oplossing aan en incubeert men de bodem gedurende een half uur in een gewone broedstovf aan 35°C. Dankzij hun snelle bewegingen en hun geringe omvang (0,2 à 0,4 µm breed) wringen de *Campylobacter* zich doorheen de filter. De filter wordt verwijderd en de bodem vervolgens geïncubeerd in een microaërofiële omgeving op 37°C.

Identificatie

De vermoedelijke identificatie *Campylobacter* is gebaseerd op de typische morfologie bij een kleuring met kristalviolet: kleine komma's, of V-vormige structuren, spiraalvormen met 2 of meer krommingen zijn zeldzamer.

De verdachte kolonies worden geïsoleerd dankzij volgende testen: oxydase, katalase, hippuraat-hydrolyse, evenals groei op 25°C en 42°C.

De gevoeligheid voor nalidixinezuur en cefalotine is steeds minder bruikbaar wegens de toename van resistentie aan chinolones en de aanwezigheid van cefalosporines in sommige cultuurmedia.

Deze verschillende testen laten de identificatie toe van de meeste *Campylobacter* stammen die in onze gewesten verantwoordelijk zijn voor diarree.

Identificatie tot op genusniveau volstaat wellicht voor de meeste stammen die uit coproculturen geïsoleerd worden; desalniettemin toont onze ervaring aan dat ongeveer 10% van deze stammen andere stammen zijn dan *Campylobacter jejuni* of *coli*.

Gezien *Campylobacter* biochemisch weinig reactief is in vergelijking met andere bacteriën, wordt een moleculaire identificatie aangeraden in geval van isolatie uit steriele lokalisaties.

Tabel: Biochemische karakteristieken van de voornaamste uit stoelgang geïsoleerde *Campylobacter* spp

	C. fetus subsp. fetus	C. concisus	C. jejuni subsp. jejuni	C. jejuni subsp. doylei	C. coli	C. lari	C. upsaliensis
Groei op 25°C/42°C	+/V	-/+	-/+	-/w	-/+	-/+	-/+
Katalase	+	-	+	V	+	+	-/w
Hippuraathydrolyse	-	-	+	+	-	-	-
Gevoeligheid voor :							
nalidixinezuur ^a	R	R	V	S	S	R ^b	S
cefalotine	S	V	R	R	R ^c	R	S

+, positieve reactie; -, negatieve reactie; w, zwak; V, variabel; S, gevoelig; R, resistent,

^a De toename van resistentie van *Campylobacter* aan chinolones maakt deze identificatie minder en minder bruikbaar.

^b Urease-positieve subgroup (UPTC), gevoelig aan nalidixinezuur.

^c Sommige stammen zijn gevoelig.

Antibiogram

De toename van de resistentie van *Campylobacter* aan antibiotica noodzaakt de laboratoria tot het uitvoeren van een antibiogram telkens een antibioticatherapie aangewezen is.

In België bedroeg het resistentiepercentage van de naar het referentielaboratorium gestuurde stammen in 2000 voor ciprofloxacine 19%. Resistentie van *C. jejuni* aan erytromycine wordt minder frequent aangetroffen (3% der gevallen).¹

Hoewel *C. fetus* en andere *Campylobacter* stammen gevoelig zijn aan β -lactams, zijn *C. jejuni* en *C. coli* resistent aan de meerderheid van de β -lactams, met inbegrip van de cefalosporines, die dus niet getest hoeven te worden.⁴ Er dient opgemerkt dat alle *Campylobacter* een natuurlijke resistentie tegenover trimetoprim, en dus ook tegenover de associatie trimetoprim-sulfamethoxazole, vertonen.

De in vitro evaluatie van de antibiotica gevoeligheid van *Campylobacter* is niet gestandaardiseerd.

- De NCCLS geeft geen enkele aanbeveling.
- De firma ROSCO (www.rosco.dk) gaf in januari 2002 tentatieve richtlijnen geldig voor één jaar.
- De Société Française de Microbiologie (SFM) (www.sfm.asso.fr) en de British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC) geven voorlopige aanbevelingen en benadrukken het gegeven dat de correlatie tussen MIC en diameters vaak moeilijk vast te leggen is.

De mogelijkheid om de gevoeligheid te bepalen aan de hand van agarbodems wordt desalniettemin beschreven.

De firma ROSCO en de SFM raden het gebruik aan van Mueller-Hinton agar aangerijkt met 5% schapen- of paardenbloed. De BSAC daarentegen raadt het gebruik aan van Iso-Sensitest agar⁶ aangerijkt met 5% schapenbloed, De incubatie gebeurt gedurende 18-24 uur op 37°C in een microaërobe omgeving.

Men mag ervan uitgaan dat ciprofloxacin of nalidixinezuur en erytromycine in eerste instantie dienen getest te worden.

Onderstaande tabel geeft de inhibitiezones weer van de verschillende antibiotica.

Antibiotica	ROSCO		SFM		BSAC	
	Resistent	Gevoelig	Resistent	Gevoelig	Resistent	Gevoelig
Nalidixinezuur	≤ 16 mm	≥18 mm	< 15 mm	≥20 mm	≤ 15 mm	≥16 mm
Ciprofloxacin	≤ 19 mm	≥23 mm	< 19 mm	≥22 mm	≤ 17 mm	≥18 mm
Erytromycine	≤ 20 mm	≥26 mm	< 17 mm	≥22 mm	≤ 19 mm	≥20 mm
Clarytromycine	≤ 19 mm	≥23 mm				

Hoewel nalidixinezuur gebruikt wordt bij de species-identificatie, wordt er bijna steeds een kruisresistentie vastgesteld tussen nalidixinezuur en ciprofloxacin⁶. De frequentie van de resistentie van *C. jejuni* en *C. coli* schijnt gelijkaardig voor azithromycine en erytromycine.

De bepaling van de MIC-waarde kan gemakkelijk uitgevoerd worden aan de hand van een E-test. Nochtans dienen we op te merken dat deze methode regelmatig waarden oplevert die lichtjes lager zijn dan de diluatiemethoden ter bepaling van de MIC en dat deze methode evenmin gestandaardiseerd is.⁷

O. VANDENBERG et A. DEDISTE
CHU Saint-Pierre, Bruxelles

REFERENTIES

1. Ducoffre G. Annual report on the surveillance of infectious diseases by the sentinel laboratories 2000 and the epidemiological trends 1983-1999. (Available in French and Dutch). Brussels: Institute of Public Health; 2001; IPH/EPI reports Nr 2001 – 018.
2. Anders BJ, Lauer BA, Paisley JW, Reller LB. Double-blind placebo controlled trial of erythromycin for treatment of Campylobacter enteritis. Lancet 1982;16:131-2.
3. O. Vandenberg, A. Dediste, L. Vlaes, A. Ebraert, P. Retore, N. Douat, P. Vandamme, J-P Butzler. Prevalence and Clinical features of non jejuni/coli Campylobacter species and related organisms in stool specimens. In: Program and abstracts of the 11th International Congress on Campylobacter, Helicobacter and Related Organisms. Freiburg, Germany.
4. Tajada P, Gomez-Graces JL, Alos JI, Balas D, Cogollos R. Antimicrobial susceptibilities of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli to 12 beta-lactam agents and combinations with beta-lactamase inhibitors. Antimicrob Agents Chemother 1996;40:1924-5
5. King A. Recommendations for susceptibility testing on fastidious organisms and those requiring special handling. J Antimicrob Chemother 2001 ; 48(suppl.1) : 77-80.
6. Gaudreau C, Gilbert H. Comparison of disc diffusion and agar dilution methods for antibiotic susceptibility testing of Campylobacter jejuni subsp. jejuni and Campylobacter coli. J Antimicrob Chemother 1997;39:707-12
7. Ge B, Bodeis S, Walker RD, White DG, Zhao S, McDermott PF, Meng J. Comparison of the Etest and agar dilution for in vitro antimicrobial susceptibility testing of Campylobacter. J Antimicrob Chemother 2002; 50:487-94

2.3 Cultuur M/3759 geïsoleerd uit bronchusaspiraats was een *Streptococcus pneumoniae*.

Taxonomie en identificatie

De cultuur werd correct geïdentificeerd door 99.1% van de 229 laboratoria. Eén laboratorium gebruikte de benaming *Pneumococcus pneumoniae* en één laboratorium slaagde er niet in de bacterie te identificeren.

De stam groeide vlot op bloedagar met vorming van droge α -hemolytische kolonies die een duidelijke inhibitiezone vertoonden rond een optochine schijfje. Na 48 uur incubatie vertoonden ook de meeste kolonies een centrale indeuking tengevolge van de autolyse.

Klinische betekenis

S. pneumoniae kan de orofaryngeale mucosa koloniseren en geïsoleerd worden bij ongeveer een vierde van de gezonde populatie. De uitkomst van kolonisatie kan drieërlei zijn: snel verdwijnen van de bacterie, ofwel asymptomatisch dragerschap gedurende maanden ofwel evolutie naar ziekte. De uitkomst wordt bepaald door de virulentie van de koloniserende stam en de efficiëntie van de afweer van de gastheer. De voornaamste virulentiefactor van de pneumokok is zijn polysacharide kapsel. Men onderkent thans 90 verschillende kapseltypen. Het kapsel belemmert de fagocytose door de polynucleairen en is sterk antigenisch. Bepaalde serotypen (bv. kapseltype 3) veroorzaken zeer regelmatig infecties terwijl andere typen frequent geïsoleerd worden bij asymptomatische dragers. De periode die verloopt tussen de kolonisatie en het optreden van een infectie is variabel; maar recente studies tonen aan dat infecties meestal snel volgen op de kolonisatie. Eenmaal specifieke IgA antistoffen tegen het kapselpolysacharide van de koloniserende pneumokok gesecreteerd worden, verdwijnt meestal de kolonisatie. Infecties met pneumokokken treden ook frequent op wanneer het respiratoire slijmvlies beschadigd wordt door een virale infectie (bv. Influenza).

S. pneumoniae is de meest frequente bacteriële verwekker van pneumonie vooral wanneer de pneumonie buiten het ziekenhuis ontstaat. Predisponerende factoren zijn reeds bestaande afwijkingen van de luchtwegen (obstructieve chronische bronchitis), alcoholmisbruik, hart- en vaatziekten. Bij 20 tot 25% van de patiënten kan men de pneumokok tijdens de pneumonie isoleren uit de bloedcirculatie.

De globale mortaliteit van een pneumokokkenpneumonie bedraagt minstens 10% maar kan oplopen tot 30% bij patiënten in de achtste levensdecade en/of bij aanwezigheid van ernstige onderliggende pathologie. Voor België moet men per jaar rekenen op minstens 20.000 patiënten met een pneumokokkenpneumonie en een mortaliteit van 10%. Het aantal stammen uit hemoculturen dat jaarlijks door ziekenhuislaboratoria ingestuurd wordt naar het referentielaboratorium neemt de laatste jaren beduidend toe. Aangezien de laboratoria die deelnemen aan de surveillance niet wijzigen over het verloop der jaren mag men veronderstellen dat het aantal invasieve pneumokokkeninfecties

in de Belgische populatie de laatste jaren werkelijk toeneemt. Opvallend is de toename van het aantal isolaten uit hemoculturen bij jonge kinderen met zelfs een verdubbeling van het aantal isolaten voor de periode 1994-2001.

Microbiële resistentie

Resistentie tegen penicilline en andere β -lactam antibiotica berust op een wijziging van de penicilline bindende proteïnen (PBPs) waardoor een verminderde affiniteit voor deze familie van antibiotica ontstaat. Bij de pneumokok beschrijft men zes verschillende moleculen (1a, 1b, 2a, 2b, 2x en 3). De affiniteit van de verschillende PBPs varieert voor de verschillende β -lactam antibiotica. Verandering van de molecule 2b resulteert steeds in een daling van de activiteit van penicilline, terwijl de activiteit van derde generatie cefalosporines niet in het gedrang komt. Voor de activiteit van deze cefalosporines zijn daarentegen de PBPs 1a en 2x wel belangrijk.

De genetische informatie voor deze resistentie tegen β -lactam antibiotica berust op transformatie uit andere resistente pneumokokken of uit viridans streptokokken (*S. mitis* en *S. oralis*) (1).

In het referentielaboratorium wordt ook de evolutie van de resistentie tegen penicilline en derde generatie cefalosporines opgevolgd, evenals de resistentie tegen erytromycine, tetracycline en ofloxacin (tabel 2). In 2000 vertoonden 215 (17.6%) van de 1218 pneumokokken een verminderde gevoeligheid voor penicilline. Een derde van deze 215 stammen hadden een MIC voor penicilline van meer dan 1 mg/L en behoorden dus tot de categorie van de 'echte resistentie'. Bij 70 van de 215 pneumokokken werd een MIC voor cefotaxime van meer dan 0.5 mg/L gevonden waarvan 8 stammen een MIC van meer dan 1 mg/L vertoonden. Voor tetracycline en erytromycine bedroegen de resistentiepercentages 31.7% respectievelijk 36.5%. De resistentie tegen ofloxacin bedroeg minder dan 1%.

Voor het jaar 2001 vertoonden slechts 214 (15%) van de 1427 pneumokokken een verminderde gevoeligheid voor penicilline. Bij slechts 2 stammen werd een 'echte resistentie' vastgesteld (MIC > 1 mg/L). Bij 7 (3.3%) van de 214 pneumokokken werd een verminderde gevoeligheid voor derde generatie cefalosporines genoteerd. Ook voor tetracycline werd een vermindering van het resistentiepercentage naar 30.2% berekend. Erytromycine resistentiepercentage bleef stabiel rond 36%. Voor de beduidende daling van de β -lactam resistentie hebben we voorlopig geen duidelijke verklaring; mogelijks is het verminderde verbruik van de β -lactam antibiotica een determinerende factor. Deze daling van het gebruik van β -lactam antibiotica is misschien het gevolg van de sensibiliseringscampagnes die door de overheid gelanceerd werden tijdens de voorbije wintermaanden. Anderzijds worden nieuwe fluoroquinolones (levofloxacin, moxifloxacin) in toenemende mate voor respiratoire infecties gebruikt. Het is dus belangrijk de evolutie van de fluoroquinolone resistentie nauwlettend op te volgen. Deze resistentie

berust op mutaties waardoor gewijzigde DNA-gyrasen (topoisomerasen) met verminderde affiniteit voor fluorochinolones door de pneumokok aangemaakt worden. Een enkele mutatie geeft geen aanleiding tot klinische resistentie maar multiële mutaties leiden doorgaans tot resistentie.

In België volgen de meeste laboratoria de richtlijnen van de NCCLS (tabel 3, 4 en 5). Voor de gevoeligheid voor penicilline gebruikt men bij de diskdiffusietechniek een oxacilline schijfje met een lading van 1 µg als screeningstest. De test wordt uitgevoerd op Mueller Hinton agar met 5% bloed. Men vertrekt van een directe suspensie van de stam in steriel fysiologisch water met een densiteit van 0.5 Mc Farland. Incubatie vindt plaats gedurende 20-24 uur in een atmosfeer van 5% CO₂. Bij het vinden van een inhibitiezone van minstens 20 mm kan men de pneumokok als gevoelig voor penicilline antwoorden (MIC ≤ 0.06 mg/L). Het NCCLS document vermeldt uitdrukkelijk dat in deze situatie amoxicilline, ampicilline, cefepime, cefotaxim, ceftriaxon, cefuroxime, imipenem en meropenem eveneens kunnen gebruikt worden voor de behandeling van de infectie; betrouwbare diskdiffusietests bestaan niet voor deze antibiotica.

De "users guide" van Rosco geeft de aanbeveling een tablet van ceftizoxime te gebruiken. Bij het vinden van een diameter voor de inhibitiezone van minstens 26 mm is de stam gevoelig voor cefotaxim en ceftriaxon.

Bij het vinden van een inhibitiezone rond het schijfje oxacilline (1 µg) van minder dan 20 mm moet de stam als resistent geantwoord worden. Het is echter niet mogelijk onderscheid te maken tussen intermediaire en resistente stammen. Voor invasieve stammen moet een MIC bepaling uitgevoerd worden. Interpretatie van de resultaten gebeurt aan de hand van tabel 3. Dit NCCLS document (M7-A5, januari 2002) maakt voor derde generatie cefalosporines onderscheid tussen meningitis en niet-meningitis stammen. In dit document zijn ook de criteria voor enkele nieuwe antibiotica zoals linezolid en cefepime opgenomen. De NCCLS raadt de "broth microdilution" procedure aan in Mueller Hinton broth met 2 tot 5% gelyseerd paardenbloed. In de meeste Belgische laboratoria is men overgeschakeld op de E-diffusietest (AB-biodisk) die betrouwbare resultaten oplevert op voorwaarde dat men rekening houdt met de richtlijnen van de producent. Zie hier enkele belangrijke richtlijnen:

- strips worden met een steriel pincet op de bodem neergelegd nadat het inoculum hierop reeds een tiental minuten werd aangebracht.
- strips mogen nooit verplaatst worden nadat ze in contact geweest zijn met de bodem. De diffusie van het antibioticum vindt immers ogenblikkelijk plaats.
- bij het aflezen mag men geen rekening houden met hemolyse maar uitsluitend met groei.

Bespreking van de resultaten

De rondgestuurde stam was duidelijk resistent voor de screeningstest met oxacilline 1 µg. Aangezien het hier ging om een niet-invasieve stam was het in feite niet noodzakelijk om een MIC bepaling uit te voeren (2). Een groot aantal laboratoria voerde echter deze MIC bepalingen wel uit. De resultaten voor de disk diffusietest zijn weergegeven in tabel 6 (papier schijfjes) en tabel 7 (Neosensitabs, Rosco).

Enkele bemerkingsen bij deze resultaten:

- Een frequente fout is het toepassen van de diskdiffusietest voor antibiotica waarvoor geen criteria bestaan zoals penicilline, meropenem en de derde generatie cefalosporines.
- Sommige laboratoria gebruikten voor het uittesten van vancomycine schijfjes met een lading van 5 µg en niet de voorgeschreven lading van 30 µg. Voor Neosensitabs zijn ladingen van 5 µg wel de correcte werkwijze.

De resultaten van de MIC bepalingen die uitgevoerd werden met de E-test techniek zijn te vinden in tabel 8.

Tabel 1: Evolutie van het aantal pneumokokken uit hemoculturen opgesplitst volgens leeftijdscategorie (België, 1994-2001)

	'94 (N=536)	'95 (N=671)	'96 (N=937)	'97 (N=933)	'98 (N=857)	'99 (N=896)	2000 (N=937)	2001 (N=1149)
<5jr	85	72	102	130	148	148	191	191
5-19jr	13	30	34	38	34	43	46	56
20-59jr	128	183	256	256	207	218	221	272
>60jr	295	386	535	509	468	487	524	631

Tabel 2: Evolutie van de antibiotica-resistentie *Streptococcus pneumoniae* (België 1995-2001)

antibioticum	Jaar aantal (%)						
	1995 (N=992)	1996 (N=1289)	1997 (N=1241)	1998 (N=1205)	1999 (N=1216)	2000 (N=1218)	2001 (N=1427)
penicilline G	70 (7.1)	122 (9.5)	124 (10)	171 (14.2)	202 (16.5)	215 (17.6)	214 (15)
tetracycline	157 (15.8)	237 (18.4)	288 (23.2)	338 (28.0)	359 (29.4)	386 (31.7)	431 (30.2)
ofloxacin	4 (0.4)	0 (0)	3 (0.2)	2 (0.1)	6 (0.5)	4 (0.3)	2 (0.1)
erytromycine	239 (24.1)	334 (25.9)	355 (28.6)	374 (31.0)	425 (34.8)	445 (36.5)	523 (36.6)

Tabel 3: NCCLS criteria voor *Streptococcus pneumoniae* in mg/L (M7-A5, januari 2002)

Antibioticum	gevoelig	intermediair	resistent
penicilline G	≤ 0.06	0.12-1	≥ 2
amoxicilline (niet-meningitis)	≤ 2	4	≥ 8
cefotaxim (meningitis)	≤ 0.5	1	≥ 2
cefotaxim (niet-meningitis)	≤ 1	2	≥ 4
imipenem	≤ 0.12	0.25-0.5	≥ 1
erytromycine	≤ 0.25	0.5	≥ 1
tetracycline	≤ 2	4	≥ 8
vancomycine	≤ 1	-	-

Tabel 4: Diskdiffusie NCLLS criteria voor *S. pneumoniae* in mm (M2-A7, januari 2002)

Antibioticum	gevoelig	intermediair	resistent
oxacilline (1 µg)	≥ 20	-	
vancomycine	≥ 17		
erytromycine	≥ 21	16-20	≤ 15
ofloxacin	≥ 16	13-15	≤ 18
tetracycline	≥ 23	19-22	≤ 15
co-trimoxazole	≥ 19	16-18	≤ 15
clindamycine	≥ 19	16-18	≤ 15

Tabel 5: Diskdiffusie Neosensitabs NCLLS criteria voor *S. pneumoniae* in mm (www.rosco.dk, users guide p 79).

Antibioticum	gevoelig	intermediair	resistent
oxacillin (1µg)	≥ 20	≤ 19	≤ 19
vancomycine (5µg)	≥ 16		
erytromycine	≥ 28	24-27	≤ 23
ofloxacin	≥ 20	17-19	≤ 16
tetracycline (10 µg)	≥ 18	15-17	≤ 14
co-trimoxazole	geen gegevens		
clindamycine (25 µg)	≥ 28	24-27	≤ 23

Tabel 6: Resultaten inhibitiezones diskdiffusie-test met papieren schijfjes

Antibioticum	Aantal resultaten	Lading	Mediane waarde	Spreading
oxacilline	39	1	8	0-18
penicilline	14	10	28	22-32
meropenem	28	10	31	22-41
vancomycine	30	30	23	18-29
cefotaxim	15	30	32	22-38
ceftazidime	7	30	31	28-36
ceftriaxon	6	30	29	25-35

Tabel 7: Resultaten inhibitiezones diffusie-test met Rosco tabletten.

Antibioticum	Aantal resultaten	Lading	Mediane waarde	Spreading
oxacilline	96	1	15	0-21
penicilline	40	5	28	20-30
meropenem	68	10	35	5-47
vancomycine	51	5	24	19-32
cefotaxim	37	30	36	25-46
ceftazidime	9	30	30	27-36
ceftriaxon	21	30	34	26-45

Tabel 8: MIC-resultaten (mg/l) met de E-test.

	Aantal resultaten	< 0.06	0.06-0.12	0.12-0.25	0.25-0.5	0.50-1	1-2	2-4
penicilline	93		1	73	17	2		
cefotaxim	25	5	18	1		1		
ceftriaxone	24	9	13	1		1		
vancomycine	23			11	12			

J. VERHAEGEN (UZ-Leuven)
K. VERNELEN (WIV-Brussel)

REFERENTIES

1. Dowson CG, Coffey TJ, Kell C, Whiley RA. Evolution of penicillin resistance in *S. pneumoniae*: the role of *S. mitis* in the formation of low affinity PBP2B in *S. pneumoniae*. *Mol Microbiol* 1993;9:635-43.
2. Bartlett JG, Dowel SF, Mandell LA et al. Practice guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis* 2000, 31:347-82.

2.4 Cultuur M/3785 was een *Enterobacter aerogenes*

De identificatie van deze stam was helemaal niet moeilijk wat geïllustreerd wordt door een juiste identificatie in bijna alle labo's. *E.aerogenes* is i.t.t. een tiental jaar geleden een heel frequente gram-negatieve staaf geworden in onze ziekenhuizen. Persoonlijk hebben wij vastgesteld dat ESBL-producerende stammen verkeerdelijk als *K. pneumoniae* worden geïdentificeerd doordat ze tijdelijk beweeglijkheid en decarboxylase negatief worden.

Een juiste identificatie is o.m. belangrijk omdat we daarmee de inherente resistentie-fenotypes en genotypes kunnen voorspellen en problemen bij de therapie kunnen anticiperen.

- De soort behoort tot de 'induceerbare' enterobacteriaceae : een chromosomaal aanwezig β -lactamase wordt in grote hoeveelheden geproduceerd bij aanwezigheid van sommige (sterk inducerende) β -lactam-moleculen. Er kunnen mutanten ontstaan en uitgeselecteerd worden die continu zeer hoge hoeveelheden produceren : deze zijn vaak zelfs aan 3^{de} generatie cefalosporines resistent. Dit kan gebeuren onder behandeling : men moet dus voorzichtig zijn bij het behandelen van *E.aerogenes* infecties met vele β -lactam antibiotica (evt. clinicus verwittigen voor secundaire resistentie). Op isolaten die na enkele dagen opnieuw geïsoleerd worden bij de patiënten moet het antibiogram opnieuw worden uitgevoerd.
- Het chromosomale β -lactamase is een Amp-C β -lactamase : belangrijk kenmerk is dat dit niet geblokkeerd wordt door β -lactamase remmers (clavulaanzuur, tazobactam).
- Een zeer groot deel van de stammen zijn ESBL producers en men heeft vastgesteld dat deze stammen grotendeels behoren tot een 2-tal clones (zie referenties) die hetzij TEM-24 hetzij TEM-3 bevatten.
- Carbapenem-resistentie is niet ongewoon door verminderde permeabiliteit en door sommige nieuwe β -lactamasen (en door combinaties).

G. CLAEYS (UZ-Gent)

REFERENTIES

1. Emergence of *Enterobacter aerogenes* as a major antibiotic-resistant nosocomial pathogen in Belgian hospitals. De Gheldre Y, Glupczynski Y, Struelens M, De Mol P. *Clin. Microbiol Infect* 1999;5(10):622-627.
2. TEM derivative-producing *Enterobacter aerogenes* strains: dissemination of a prevalent clone. Dumarche P, De Champs C, Sirot D, Chanal C, Bonnet R, Sirot J. *Antimicrob Agents Chemother* 2002 Apr;46(4):1128-31.
3. National epidemiologic surveys of *Enterobacter aerogenes* in Belgian hospitals from 1996 to 1998. De Gheldre Y, Struelens MJ, Glupczynski Y, De Mol P, Maes N, Nonhoff C, Chetoui H, Sion C, Ronveaux O, Vaneechoutte M; Groupement pour le Dépistage, l'Etude et la Prévention des Infections Hospitalières (GDEPIH-GOSPIZ). *J Clin Microbiol* 2001 Mar;39(3):889-96

II. RESULTATEN VAN DE IDENTIFICATIES (N=229)

De correcte of aanvaardbare resultaten zijn onderlijnd.

3.1 Cultuur M/2623 *Erysipelothrix rhusiopathiae* (bunzingbeet) N= 229

<u>Erysipelothrix rhusiopathiae</u>	206 (90.0%)
Erysipelothrix sp.	7 (3.0%)
Erysipelothrix insidiosa	1
Erysipelothrix tonsillarum	1
Actinomyces meyeri	1
Arcanobacterium pyogenes	1
Capnocytophaga ochracea	1
Capnocytophaga sp.	2
Corynebacterium bovis	1
Pasteurella bettyae	1
Pasteurella multocida	1
Staphylococcus capitis	1
Streptobacillus moniliformis	2
Gram positieve bacillen	1
Geen antwoord	2

3.2 Cultuur M/3753 *Campylobacter jejuni* (feces) N= 229

<u>Campylobacter species</u>	111 (48.5%)
<u>Campylobacter jejuni</u>	82 (35.8%)
<u>Campylobacter jejuni subsp. jejuni</u>	8 (10.3%)
Campylobacter lari	2
Campylobacter sputorum	1
Campylobacter coli	1
Helicobacter jejuni	1
Afwezigheid van groei	19
Coproculturen niet uitgevoerd in labo	2
Geen antwoord	2

Het valt op te merken dat 5 laboratoria waar de kiem geen groei vertoonde op basis van de gramkleuring een Campylobacter vermoeden.

3.3 Cultuur M/3759 *Streptococcus pneumoniae* (bronchusaspiraant) N= 229

<u>Streptococcus pneumoniae</u>	222 (96.9%)
<u>Pneumococcus</u>	4 (1.7%)
<u>Diplococcus pneumoniae</u>	1
Pneumococcus pneumoniae	1
Geen antwoord	1

De antwoorden op de vraag of deze stam ten opzichte van penicilline gevoeligheid, verminderde gevoeligheid dan wel resistentie vertoonde zijn als volgt verdeeld:

- 18 laboratoria gaven geen antwoord:
 - o 1 laboratorium identificeerde de pneumokok niet
 - o 1 laboratorium voert geen antibiogram uit
 - o 14 laboratoria voeren geen MIC bepaling uit ; een aantal onder hen vermeldden dat zonder MIC bepaling het niet mogelijk is de vraag te beantwoorden
 - o 2 laboratoria voerden wel de MIC bepaling uit maar beantwoorden de vraag niet
- 6 laboratoria vermeldden “verminderde gevoeligheid of resistentie” ; het onderscheid kan enkel via MIC bepaling gemaakt worden; deze laboratoria voeren zelf geen MIC bepaling uit doch sturen de stam desgevallend door
- 173 laboratoria antwoordden: “verminderde gevoeligheid”; 139 doen dit op basis van MIC bepaling, 34 zonder een MIC bepaling uitgevoerd te hebben
- 22 laboratoria antwoordden “resistentie”; 2 doen dit op basis van een MIC bepaling, 20 zonder een MIC bepaling uitgevoerd te hebben
- 10 laboratoria antwoordden “gevoeligheid”; 2 doen dit op basis van een MIC bepaling, 8 zonder een MIC bepaling uitgevoerd te hebben

3.4 **Cultuur M/3785** *Enterobacter aerogenes* (urine) N= 229

<u>Enterobacter aerogenes</u>	227 (99.1%)
Enterobacter sp.	1
Enterobacter aerogenes + gisten	1

IV. ANTIBIOGRAM

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

4.1 Cultuur M/3753

177 laboratoria hebben de gevoeligheid voor minstens 1 antibioticum uitgetest; sommige laboratoria gebruiken meerdere technieken.

36 laboratoria vermeldden geen antibiogram voor *Campylobacter spp.* te bepalen vanwege het ontbreken van NCCLS richtlijnen. Andere laboratoria vermeldden het gebruik van andere richtlijnen dan deze van de NCCLS: SFM, ROSCO, Manual of Clinical Microbiology 7th edition, Prof. Butzler (verkregen via BioMérieux), eigen richtlijnen. Het is opvallend dat een aantal laboratoria vermeldden in routine geen antibiogram uit te voeren, doch dit wel doen voor de kwaliteitscontrole.

Eén laboratorium vermeldde zelf geen antibiogram voor deze kiem uit voeren doch de stammen door te sturen naar een ander laboratorium.

Tabel 4.1.1. De resultaten der antibioticabepaling voor staal M/3753

	Verwacht resultaat	S	I	R
erythromycine	S	150		
ciprofloxacin	R	3		130
ampicilline	R	26	19	75
amoxicilline+clavulaanzuur	S	111		5
gentamicine	S	112	1	1
cefotaxime	R	13	21	55

Niet alle deelnemers vermeldden de gebruikte methode. Voor zover deze aangegeven werd, hebben wij voor de schijfjesmethode volgens NCCLS en ROSCO (NEO-SENSITABS) gemiddelde, minimum en maximum diameter bepaald.

Tabel 4.1.2. Bekomen diameters met de schijfjesmethode volgens NCCLS voor staal M/3753

	Aantal gebruikers	Lading	Gemiddelde diameter	Minimum diameter	Maximum diameter
erythromycine	41	15	28	19	42
ciprofloxacin	35	5	3	0	7
ampicilline	35	10	8	0	25
amoxicilline+clavulaanzuur ¹	17	30/15	28	6	52
	12	20/10	30	14	45
gentamicine ²	21	10	2	17	40
cefotaxime	24	30	11	0	18

¹ Voor amoxicilline/clavulaanzuur zijn er 2 mogelijke concentraties op de markt.

² Deelnemers die "high level gentamicine" gebruikten werden niet in aanmerking genomen voor de beoordeling der diameters. "High level gentamicine" is immers niet aangewezen om de gevoeligheid van gram negatieven te bepalen.

Tabel 4.1.3. Bekomen diameters met de schijfjesmethode volgens ROSCO voor staal M/3753

	Aantal gebruikers	Lading	Gemiddelde diameter	Minimum diameter	Maximum diameter
erythromycine	103	78	36	25	60
ciprofloxacin	90	10	6	0	30
ampicilline	83	33	20	0	30
amoxicilline+clavulaanzuur ¹	82	30/15	38	21	56
gentamicine ¹	54	40	35	25	60
cefotaxime	62	30	20	0	32

¹ Deelnemers die "high level gentamicine" gebruikten werden niet in aanmerking genomen voor de beoordeling der diameters. "High level gentamicine" is immers niet aangewezen om de gevoeligheid van gram negatieven te bepalen.

4.2 Cultuur M/3759

228 laboratoria hebben de gevoeligheid voor minstens 1 antibioticum uitgetest; sommige laboratoria gebruiken meerdere technieken.

Vele laboratoria voeren zowel diffusietesten als MIC bepalingen uit. Zes laboratoria vermeldden de noodzaak tot MIC bepaling van één of meerdere antibiotica, doch beschikken zelf niet over deze techniek en sturen derhalve dergelijke stammen naar een ander (referentie) laboratorium door.

In onderstaande tabel is slechts één resultaat per antibioticum per laboratorium opgenomen. In de meeste gevallen worden de resultaten van de diffusiemethode bevestigd door de MIC bepaling; voor drie laboratoria, welke met de schijfjes een resultaat "R" bekwamen, doch "I" met de MIC bepaling, werd dit laatste resultaat weerhouden (voor *pneumokokken* met een mogelijke resistentie is de MIC bepaling immers de meest aangewezen techniek).

Tabel 4.2.1. De resultaten der antibioticabepaling voor staal M/3759

	Verwacht resultaat	S	I	I/R	R
oxacilline		8	15	1	108
penicilline	I	11	151	5	39
meropenem	S	104	2		5
vancomycine	S	192			
cefalosporine 3e gen					
cefotaxime	S	89	2		
ceftazidime	S	15	1		
ceftriaxone	S	48		1	
ceftizoxime	S	1			
"cefalosporine" ¹	S	25			1

¹ Een aantal der deelnemers vermeldde niet welk derde generatie cefalosporine getest werd.

De resultaten der inhibitiezones en MIC-resultaten met de E-test werden reeds in het commentaar vermeld.

V. PARASITOLOGIE

5.1. De monsters

Staal P/3628 bevatte meerdere parasieten . De frequentst voorkomende parasieten worden onder paragraaf 5.3. Commentaar besproken.

Staal P/3907 werd verondersteld negatief te zijn. Helaas is uit de enquête gebleken dat een aantal stalen toch een geringe hoeveelheid cryptosporidiën te bevatten. Zowel laboratoria die het staal negatief bevonden als laboratoria die deze parasieten aantreffen , hebben dus een correct antwoord ingeleverd.

5.2. De resultaten

Staal P/3628

217 laboratoria vonden 798 parasieten terug . Tabel 5.1. geeft de teruggevonden parasieten weer. Tabel 5.2. geeft het aantal parasieten teruggevonden per laboratorium weer.

Tabel 5.1. Parasieten teruggevonden in staal P/3628

Parasiet	Aantal
Trichuris trichiura	188
Entamoeba histolytica ¹	162
Hymenolepis nana	131
Endolimax nana	102
Giardia lamblia	78
Ascaris lumbricoides	33
Blastocystis hominis	32
Entamoeba coli	16
Entamoeba hartmanni	12
Entamoeba histolytica/dispar ¹	10
Hymenolepis diminuta	8
Iodamoeba butschlii	7
Cryptosporidium species	5
Cyclospora species	4
Entamoeba species	2
Taenia species	1
Entamoeba gingivalis	1
Entamoeba dispar ¹	1
Echinococcus granulosus	1
Dientamoeba fragilis	1
Chilomastix mesnii	1
Cocciën ²	1
Niet-pathogene amoeben ³	1
Totaal	798

¹ Tien laboratoria antwoordden *Entamoeba histolytica/dispar* zonder het onderscheid te maken tussen beide; 162 antwoordden *E. histolytica* en één *E. dispar*.

² Eén laboratorium vermeldde "cocciën (*Cyclospora* of *Cryptosporidium*)".

³ Eén laboratorium vermeldde, naast *T. trichiura*, *H. nana*, *G. lamblia* en *E. histolytica*, de aanwezigheid van "niet-pathogene amoeben".

Tabel 5.2. Aantal parasieten weergevonden per laboratorium voor staal P/3628

Aantal weergevonden parasieten	Aantal laboratoria
1	8
2	27
3	74
4	53
5	32
6	20
7	2
8	1

Voor de frequentst teruggevonden parasieten werden volgende evolutiestadia vermeld:

- *A. lumbricoides*: ei (32) en embryofoor (1)
- *B. hominis* : cyste (6), trofozoïet (3) en geen evolutiestadium (23)
- *E. nana*: cyste (96), ei (1), oöcyste (1) en geen evolutiestadium (4)
- *E. histolytica*: cyste (154), trofozoïet (5), oöcyste (2), ei (1) en geen evolutiestadium (5). (5 laboratoria vermeldden hier 2 evolutiestadia: cyste en trofozoïet)
- *G. lamblia*: cyste (73), ei (2), trofozoïet (1) en geen evolutiestadium (2)
- *H. nana*: ei (125), cyste (4), embryofoor (1) en geen evolutiestadium (1)
- *T. trichiura*: ei (181), cyste (3), embryofoor (2) en geen evolutiestadium (2)

Ook bij enkele minder frequent teruggevonden parasieten (*E. hartmanni* en *I. butschlii*) is er telkens een laboratorium dat 2 evolutie stadia (cyste en trofozoïet) vermeldde.

Staal P/3907

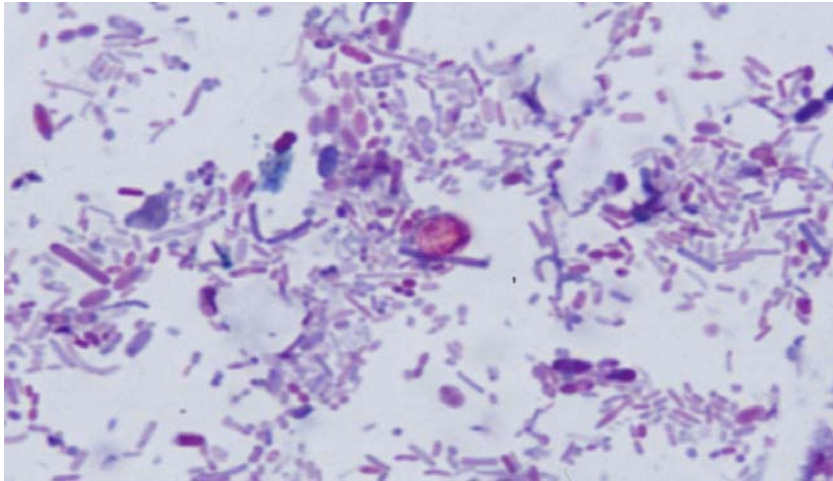
209 laboratoria stuurden een antwoordformulier in (8 laboratoria leverden wel een resultaat in voor staal P/3826 doch niet voor staal P/3907), goed voor 227 resultaten.

Er dient hierbij vermeld dat 12 laboratoria 2 parasieten vermeldden en 1 laboratorium 3 . Tevens zijn er 4 laboratoria (waaronder één van de 12 die 2 parasieten vermeldden) die zowel "afwezigheid van parasieten" als één (of 2 in één geval) parasiet vermeldden. Verwijderen we deze 4 "afwezigheid van parasieten" uit de resultaten lijst, dan houden we nog 223 interpreteerbare resultaten over. Een overzicht hiervan is te vinden in tabel 5.3.

Tabel 5.3. Parasieten teruggevonden in staal P/3907

Parasiet	Aantal
Afwezigheid van parasieten	112
Cryptosporidium species	55
Ascaris lumbricoides	18
Blastocystis hominis	14
Cyclospora species	12
Hymenolepis nana	4
Trichuris trichiura	4
Strongyloides stercoralis	2
Endolimax nana	1
Trichomonas vaginalis	1
Totaal	223

Voor *Cryptosporidium* spp. worden volgende evolutiestadia vermeld: oöcyste (50), cyste (4) en niet gespecificeerd (1).



Figuur 5.2.1. *Cryptosporidium* spp.

5.3. Commentaar

5.3.1. Staal P/3628

Dit staal was een mengsel van verschillende stalen van de leden van een zelfde Oost-Afrikaanse familie. Helminthen en protozoa komen voor bij een aanzienlijk deel van de Afrikaanse bevolking (2, 4, 6) zodat het niet verwonderlijk is een groot aantal verschillende species aan te treffen. We zullen de bespreking beperken tot deze helminthen en protozoa welke het meest massief aanwezig waren.

A. *Trichuris trichiura*

Trichuris trichiura, *Ascaris lumbricoides* en de mijnworm (*Ancylostoma duodenale* of *Necator americanus*, twee verwante wormen met een verschillende geografische verspreiding) zijn de meest voorkomende helminthen (2, 4). Men schat dat minstens een miljard mensen met elk van deze drie species besmet zijn (4). Het zijn alle drie rondwormen. 50 en meer % van de schoolkinderen in Afrika zijn besmet met deze drie species (2). Het ei (50-55 μm) van *Trichuris* heeft een typisch uitzicht, gelijkend op een citroen (figuur 5.3.1). De larve komt vrij uit het ei in het duodenum en migreert naar het coecum, waar zij zich verder ontwikkelt. De volwassen wormen (4 à 5 cm voor een volwassen wijfje; *whipworm*, gelijkend op een lange zweep) leven met het voorste fijnere deel ingegraven in de mucosa van het coecum en het colon. Infecties met een matig aantal *Trichuris trichiura* worden meestal goed verdragen. Bij zeer zware infecties is rectale prolaps mogelijk. Verwante species met analoge eieren

komen voor bij dieren. Mebendazole wordt steeds aanzien als eerste keuze behandeling (2,3).



Figuur 5.3.1. Typisch ei van *Trichuris trichiura* (ongekleurd).

B. *Entamoeba histolytica*

Verschillende amoeben waaronder *Entamoeba histolytica* kunnen de mens parasiteren. *E. histolytica* wordt aanzien als de meest geduchte species omdat zij de weefsels kan invaderen. Infecties met *E. histolytica* komen veelvuldig voor in de tropen. De meeste infecties in ons land komen dan ook voor bij reizigers uit tropische of subtropische gebieden. Andere risicogroepen zijn patiënten in psychiatrische instellingen, mannelijke homofielen (*E. histolytica* wordt aangetroffen bij het *gay bowel syndrome*), en patiënten met een verminderde immuniteit zoals onder meer AIDS-patiënten. *E. histolytica* moet worden gedifferentieerd van de morfologisch identische, maar niet pathogene soort *Entamoeba dispar*. Het onderscheid tussen deze laatste species en *E. histolytica* kan op diverse, vrij complexe manieren worden bepaald (iso-enzyme-profielen, PCR ...) maar is geen routine (1, 5). Deze differentiatie via PCR wordt uitgevoerd in het Instituut voor Tropische Geneeskunde in Antwerpen op verse, ingevroren of geformuleerde (4%) faeces. Volgens dit labo is de verhouding in België: 98% *Entamoeba dispar* en 2% *Entamoeba histolytica*.

De overdracht gebeurt faeco-oraal, eventueel indirect via besmet water of voedsel.

E. histolytica is de verwekker van amoebendysenterie. Hierbij invaderen de *E. histolytica* de submucosa van het colon. Deze ulceraties besmetten gemakkelijk met darmbacteriën, wat kan resulteren in een toxisch megacolon. Chronische ulceraties kunnen evolueren naar amoeboma's die kunnen verward worden met tumorale massa's. De ontlasting bevat ettercellen, rode bloedcellen en slijm. In zeldzame gevallen kan extra-intestinale abcesvorming optreden via hematogene uitzaaiing, gewoonlijk naar de rechter leverlob maar ook pulmonaire en andere lokalisaties zijn gekend. Een leverabces met *E. histolytica* komt zelden voor buiten de tropen. Men

vermoedt dat ook andere factoren een rol spelen bij het ontstaan van een dergelijk leverabces.

Amoebiase veroorzaakt geen eosinofilie. In geval van abcesvorming zijn de klassieke inflammatoire parameters en de levertesten gestoord. De laboratorium-diagnose van een amoebenabces geschiedt door middel van specifieke serologie (uitgevoerd in het Instituut voor Tropische Geneeskunde te Antwerpen). Amoebendysenterie wordt aangetoond door parasitologisch onderzoek van zeer verse feces of op biopsies. Grote beweeglijke hematofage trofozoïten ($> 20\mu\text{m}$, magna vormen) zijn diagnostisch. Kleine trofozoïten (minuta vormen), precysten en vooral cysten (10-15 μm , figuur 2 en 3) worden aangetroffen bij kiemdragers van zowel de pathogene *E. histolytica* als de niet pathogene species *E. dispar*. Voor de therapie verwijzen we naar de Sanford (3).



Figuur 5.3.2. Cyste met twee zichtbare kernen van *Entamoeba histolytica*. Typisch is het centrale karyozoom en de perifere chromatine van de kernen (Lugolkleuring).



Figuur 5.3.3. Cyste met dikke chromatinestaaf van *Entamoeba histolytica*. De enige zichtbare kern is uit focus (Lugolkleuring).

C. *Hymenolepis nana*

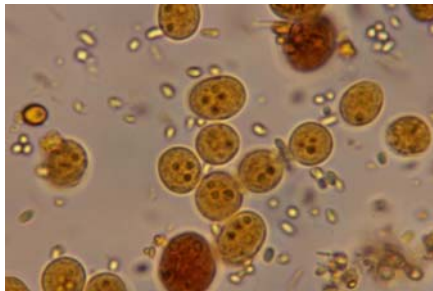
Zie verslag 03/2000.



Figuur 5.3.4: Typisch kleurloos ei (30-50 μ) van *Hymenolepis nana*. De hexacanth oncosfeer (met drie paren haakjes) is omgeven door een embryofoor die twee polaire elementen bevat van waaruit vier tot acht filamenten vertrekken. Het geheel is omgeven door een dunne externe schaal (ongekleurd).

D. *Endolimax nana*

Deze niet-pathogene amoëbe wordt veelvuldig aangetroffen ook buiten de tropen. Met Lugol zijn de cysten (5-10 μ m) geelbruin gekleurd en kan men de geblokte kernchromatine goed waarnemen. Oudere cysten (in niet-verse stoelgang) zijn moeilijker te herkennen omdat de kernstructuur vervaagt.



Figuur 5.3.5: De cysten van *Endolimax nana* bezitten vier kernen met geblokte chromatine. De twee grotere en donkere cysten zijn *Giardia lamblia* (Lugolkleuring).

M. LONTIE (MCH, Leuven)
K. VERNELEN (WIV, Brussel)

REFERENTIES

1. Blessmann J., Buss H., Ton Nu P. *et al.* 2002. Real-Time PCR for detection and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in fecal samples. *Journal of Clinical Microbiology* 40:4413-4417.
2. Gatti F., Krubwa F., Lontie M., Vandepitte J. & Thienpont D. 1972. Clinical experience with mebendazole – A new broad-spectrum anthelmintic. *Advances in Antimicrobial and Antineoplastic Chemotherapy*, 453-455.
3. Sanford J., Gilbert D., Moellering R. & Sande M. 2002. *The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy 2002-2003*. Antimicrobial Therapy, Inc. Vermont.
4. <http://www.biosci.ohio-state.edu/~parasite/estimates.html>
5. <http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/Default.htm>
6. <http://www.who.int/ctd/intpara/burdens.htm>

VI. SEROLOGIE

6.1. HIV

6.1.1. Beschrijving van de monsters

Drie vloeibare geïnactiveerde en getrombineerde plasmamonsters werden verstuurd:

- S/3850 : is een positief plasma
- S/3851 : is een positief plasma
- S/3852 : is een negatief plasma

6.1.2. De deelnemers

In het totaal stuurden 221 laboratoria hun enquêteformulier terug. Meerdere laboratoria voerden meer dan één test uit per staal.

Zowel op staal S/3850 als op staal S/3851 werden 260 testen uitgevoerd. Op beide stalen voerden 187 laboratoria 1 test uit, 29 laboratoria voerden 2 testen uit en 5 voerden 3 testen uit.

Op staal S/3852 werden 252 testen uitgevoerd. 195 laboratoria voerden 1 test uit, 21 voerden 2 testen uit en 5 voerden 3 testen uit; 2 van de 21 laboratoria die 2 testen uitvoerden, herhaalden dezelfde test (mogelijk omdat ze twijfelden aan het resultaat).

6.1.2. Gebruikte reagentia

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

Fabrikant	Reagens	Staal S/3850	Staal S/3851	Staal S/3852
Abbott	AxSYM HIV-1/2gO	101	101	102
	AxSYM HIV Ag/Ab Combo	9	9	9
	DETERMINE HIV 1/2	7	7	7
	HIV-1/2gO EIA	4	4	4
	IMx HIV-1/HIV-2 III PLUS	3	3	3
	MUREX HIV-1.2.0	5	5	5
	PRISM HIV 0 PLUS	2	2	3
	Totaal Abbott		131	131
BioMérieux	VIDAS HIV DUO	66	66	59
	VIDAS HIV p24 II	1	1	
	Totaal BioMérieux	67	67	59
BioRad	Access HIV 1/2 new	25	25	25
	Genscreen HIV 1/2 Version 2	1	1	1
	Totaal BioRad	26	26	26
Biotest	Biotest HIV Tetra kit	6	6	6
	Totaal Biotest	6	6	6
DadeBehring	Enzygnost anti-HIV 1/2 PLUS	1	1	1
	Enzygnost HIV integral	8	8	8
	Totaal DadeBehring	9	9	9
Fujirebio	Serodia HIV 1/2	1	1	1
	Totaal Fujirebio	1	1	1
Innogenetics	Inno-Lia HIV confirmation	1	1	
	Totaal Innogenetics	1	1	
Organon Teknika	Vironostika HIV Uniform II Ag/Ab	2	2	2
	Totaal Organon	2	2	2
Ortho Diagnostics	HIV1/HIV2-Ab-Capture Elisa test	2	2	2
	VITROS immunodiagnostic product anti HIV 1+2	14	14	13
	Totaal Ortho	16	16	15
Niet gespecificeerd	Antigen p24	1	1	1
	Totaal niet gespecificeerd	1	1	1

6.1.4. Resultaten

Voor de stalen S/3850 en S/3851 stellen we gelijkaardige resultaten vast. Alle screeningstesten waren positief. Twee laboratoria voerden een Ag p24 bepaling uit (wat niet gevraagd was); deze was negatief op beide stalen, wat bevestigd werd door het referentielaboratorium. Eén van deze beide laboratoria voerde tevens een confirmatietest uit, welke positief was op de beide stalen.

Slechts vier laboratoria zouden deze stalen niet doorsturen naar een referentielaboratorium; onder deze bevinden zich zowel het laboratorium, dat de confirmatietest zelf uitvoerde, evenals het andere laboratorium welke Ag p24 bepaalde.

Zes laboratoria bekwamen een positief resultaat voor staal S/3852; één van deze laboratoria zelfs met twee verschillende testen; twee van de zes bepaalden de test tweemaal met hetzelfde reagens en hadden éénmaal een positief en éénmaal een negatief resultaat. Drie andere laboratoria bekwamen een borderline resultaat. Eén van deze 3 laboratoria bekwam een borderline resultaat met één reagens en een negatief met een ander.

Vier vals positieve resultaten en 1 borderline resultaat werden bekomen met de AxSYM HIV 1/2 gO test van Abbott; 1 vals positief resultaat werd bekomen met de verwante HIV 1/2 gO. Een mogelijke verklaring is dat deze laboratoria niet de voorgeschreven behandeling uitgevoerd hebben, welke bij deze methode aangewezen is voor troebele stalen: de firma raadt aan dergelijke stalen gedurende 10 minuten bij minstens 10 000 g te centrifugeren (eenzelfde voorbehandeling is trouwens ook aangewezen bij ontdooide stalen).

Vijf van de laboratoria met een positief resultaat en de drie met borderline resultaat zouden het doorsturen naar een referentielaboratorium; één van beide laboratoria die een discordant positief/negatief resultaat bekwam, vermeldt niet of het dit staal zou doorsturen. Tevens dient vermeld dat er van de laboratoria met een correct (negatief) resultaat er één is dat het staal toch naar een referentielaboratorium zou doorsturen.

6.1.5. Commentaar op de resultaten van het onderzoek

De twee stalen S/3850 en S/3851 zijn stalen met een bewezen positiviteit op anti-HIV antistoffen. Het antigeen p24 is negatief.

Deze twee stalen dienen naar een referentielaboratorium verzonden te worden voor confirmatie. Het opsporen van het antigeen p24 is geen confirmatietest. Inderdaad wordt dit antigeen enkel in het vroege beginstadium van de infectie teruggevonden en dan nog kortstondig en op een onregelmatige wijze en wanneer het virus zich intens repliceert tijdens het AIDS-stadium. Dit wordt

nog zelden aangetroffen gezien de meeste patiënten onder antivirale behandeling staan.
Staal S/3852 is negatief.
De referentielaboratoria bevonden dit staal volkomen negatief, geen enkele test leverde een "borderline" resultaat op.

D. SONDAG-THULL (Centre de tranfusion, Liège)