

## I. ALGEMENE BEMERKINGEN

Voor de 3de evaluatie van het jaar 2005 (enquête 2005/3) werd volgend materiaal verzonden op 03 oktober 2005.

1.1. Twee gelyofiliseerde monsters en twee klinische 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 plasmamonsters voor het opsporen van antistoffen tegen HIV, EBV en CMV.

### AANTAL DEELNEMERS

Het aantal evalueerbare antwoordbulletins bedroeg:

1.	Voor identificatie en antibiogram :	201
2.	Voor parasitologie :	195
3.	Voor de serologie	
	HIV :	194
	EBV :	169
	CMV :	190

Wij danken Marc Lontie voor het ter beschikking stellen van de foto's in dit globaal rapport.

## II. IDENTIFICATIES

### 2.1. Cultuur 6410

Dit staal bevatte een *Escherichia coli* O157 die geen toxine produceert.

*E. coli* O157 produceert meestal VT1 en/of VT2, cytotoxines die ook Shiga toxines (ST1 en ST2) genoemd worden. Hiervan komen de benamingen Verotoxine of Shiga toxine producerende *E. coli* (VTEC of STEC) die als synoniemen van enterohemorragische *E. coli* (EHEC) kunnen gebruikt worden. Typische EHEC bezitten ook het *eae* gen en zijn enterohemolytisch (hemolyse enkel op in calcium buffer gewassen schapenbloed) terwijl atypische EHEC één of beide van deze laatste virulentie factoren missen.

Om epidemies met dit zoonotisch micro-organisme vroegtijdig te detecteren en de overdracht te onderbreken wordt er aangeraden om EHEC O157 systematisch op te sporen bij elke coprocultuur. Alternatief kan men beslissen om enkel te screenen in geval van aanwezigheid van macroscopisch bloed in de stoelgang, van vermelding van bloederige diarree in de anamnese, in gevallen van hemolytisch uremisch syndroom (HUS) en in gevallen van diarree in het kader van epidemies maar men weet dat dan een aanzienlijk aantal van EHEC O157 zullen gemist worden. Spijtig genoeg is het opsporen van deze micro-organismen nog altijd niet in de RIZIV nomenclatuur voorzien en slechts een kleine minderheid van de Belgische laboratoria spoort ze op.

EHEC O157 kunnen opgespoord worden op een gewijzigde MacConkey agar, de SMAC, die sorbitol bevat i.p.v. lactose of op één van de chromogene media die commercieel beschikbaar zijn. Ze vormen kleurloze kolonies op SMAC. De gevoeligheid kan opgedreven worden door het toevoegen van cefixime en telluriet (CT-SMAC medium) of door het gebruik van aanrijking in vloeibare media of d.m.v. immunomagnetische scheiding.

Sorbitol negatieve kolonies worden met een O157 antiserum of latex reagens getest. Aspecifieke agglutinatie wordt uitgesloten door afwezigheid van agglutinatie in fysiologisch water of in controle latex. Door middel van een biochemische identificatierreeks zal men zich vergewissen dat het om een *E. coli* gaat, maar men moet niet uit het oog verliezen dat deze EHEC O157  $\beta$ -glucuronidase negatief zijn, en soms urease positief. Uiteindelijk is het aangewezen om de aanwezigheid van VT1 en/of VT2 en de andere virulentie factoren door PCR na te checken.

Andere serotypes van EHEC (en de zeldzame sorbitol-fermenterende EHEC O157) hebben geen bijzondere biotype en kunnen enkel op basis van de productie van VT of de aanwezigheid van het VT gen via moleculaire technieken opgespoord worden. Hiervoor wordt er aangeraden de stoelgang stalen van alle patiënten met HUS naar het referentielaboratorium van het AZ-VUB te verzenden.

Te noteren valt dat de infectieuze dosis zeer laag is en dat overdracht van mens tot mens frequent gerapporteerd wordt, evenals laboratorium besmettingen. Dit is de reden waarom men voor deze oefening een bijzondere stam zonder VT genen heeft gebruikt.

De meeste laboratoria hebben een antwoord gegeven dat aantoont dat ze EHEC O157 kennen. Het is nochtans moeilijk het verschil te maken tussen laboratoria die wel degelijk voor O157 geagglutineerd hebben en laboratoria die de veronderstelling gemaakt hebben dat een sorbitol negatieve *E. coli* wel een O157 EHEC zou zijn.

Sommigen maakten de verwarring met andere diarree verwekkende *E. coli* groepen, enteropathogene *E. coli* (EPEC), enteroinvasieve *E. coli* (EIEC) of met verwante micro-organismen zoals *E. fergusonii*. Enkele laboratoria rapporteerden dat er geen pathogene kiem geïsoleerd werd, wat niet foutief kan beschouwd worden vermits de RIZIV nomenclatuur nog altijd enkel naar het opsporen van *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* en *Campylobacter* vraagt.

Denis Pierard, AZ VUB, Brussel

## 2.2. Cultuur M/6411 *Streptococcus pyogenes*

*Streptococcus pyogenes* blijft een belangrijke oorzaak van faryngitis, invasieve infecties en niet-suppuratieve verwickelingen (Carapetis 2005, Cunnigham 2000). Het opnieuw verschijnen van klinische manifestaties vanaf het midden van de jaren 80 en de vaststelling, dat sommige serotypes sterk toenemen, hebben geleid tot het oprichten van een Europees surveillancenetwerk en tot een wereldwijde toename van publicaties (Carapetis 2005, Ekelund 2005, Lamagni 2005). Nochtans blijkt de associatie van deze serotypes met de aanwezigheid van de genen die verantwoordelijk zijn voor de productie van erythrogene toxines (betrokken bij de « streptococcal toxic shock »), niet exclusief voor te komen bij de invasieve stammen.

Trouwens terwijl de resistentie tegen penicilline nog niet actueel is, is de resistentie van *S. pneumoniae* en *S. pyogenes* tegen macroliden daarentegen toegenomen in verschillende delen van de wereld; deze resistentie verschilt vaak van de ene streek tot de andere en is minstens deels gebonden aan het verbruik van macroliden (Goossens abstract, Hsueh2006).

### Identificatie

De identificatie van deze *S. pyogenes* stam uit een staal, dat ook viridans streptokokken bevatte, blijkt niet meer problemen gesteld te hebben dan bij vroegere kwaliteitscontroles (EKE 2000/3, EKE 2003/3).

We moeten nochtans onderlijnen dat de voorlopige detectiemethoden, die gewoonlijk in de laboratoria gebruikt worden, niet 100% betrouwbaar zijn. De laboratoria mogen zich voor een definitieve identificatie dus niet beperken tot een inhibitiezone rond bacitracine (0.04U), en misschien zelfs niet tot het opsporen van het groepsantigeen. Er zijn inderdaad *Streptococcus pyogenes* klonen beschreven, die bacitracine-resistent zijn. Ze kunnen uit keelwissers geïsoleerd worden en lijken niet geassocieerd met een wel bepaalde invasiviteit (Malhotra2003, CQ2000-3). De laboratoria zouden dus in ideale omstandigheden de identificatie van  $\beta$ -hemolytische kolonies niet mogen stoppen in geval van afwezigheid van een zone rond de bacitracine-schijf.

*S. dysgalactiae* stammen die het groep A antigeen vertonen, zijn beschreven (Brandt 1999); deze stammen lijken echter niet frequent voor te komen en het belang van een doorgedreven identificatie tot op species niveau dringt zich enkel op bij invasieve vormen en in het kader van prevalentie-enquêtes. Men moet er zich echter van bewust zijn dat dergelijke «valstrikken» bestaan voor de identificatie, zelfs bij stammen die uit een keelwisser geïsoleerd worden. Men zou kunnen voorstellen om, vooral in geval van diepe infecties, naast de bepaling van de antigeen groep, ook het pyrrolidonylarylamidase op te sporen en eventueel een Voges-Proskauer test uit te voeren. In de toekomst zou een gelijktijdige detectie van de identificatiekarakteristieken, de virulentie en de resistentie tegen antibiotica via micro-arrays kunnen voorzien worden (Davignon 2005).

### Antibiogram

Voor het antibiogram bestaan er meer controverses, zowel voor de methodologie als voor de indicaties.

11 van de 190 deelnemers (6%) bepalen in routine geen antibiogram en hebben er ook geen geantwoord voor de EKE. Het is hoogstwaarschijnlijk dat een groot aantal van de laboratoria, die wel een antibiogram geantwoord hebben voor de EKE er in werkelijkheid in routine geen uitvoeren. Tabel 4.1.1. werd opgesteld op basis van de resultaten van de 179 laboratoria die minstens 1 resultaat voor 1 antibioticum gerapporteerd hebben.

De keuze van de antibiotica was vrij; de 5 meest geteste antibiotica waren penicilline, ampicilline, erythromycine, clindamycine en tetracycline. Enkel de grote  $\beta$ -hemolytische kolonies worden gerapporteerd volgens de CLSI/NCCLS met de criteria voor de « $\beta$ -hemolytische streptococcus»; de kleine  $\beta$ -hemolytische worden, ongeacht hun antigeengroep (A,C,R,G) gerangschikt bij de viridans streptokokken (CLSI/NCCLS 2005, facklam). Waar het probleem van een eventuele resistentie tegen of tolerantie aan penicilline zich in de praktijk nog steeds niet blijkt te stellen voor *S.pyogenes* is dit niet het geval voor de macroliden (die frequent als vervangmiddel gebruikt worden, in geval van penicilline-allergie of therapiefalen).

Verschillende laboratoria hebben verklaard enkel een antibiogram uit te voeren in geval van allergie of voor stammen afkomstig uit diepe infecties. Deze houding is in routine misschien verdedigbaar op een individuele basis maar vereist dan wel een regionale surveillance, van zowel de invasieve stammen als van deze die uit keelwissers geïsoleerd worden.

### Resistentiemechanismen

De resistentie tegen macroliden kan bij *Streptococcus pyogenes* te wijten zijn aan verschillende mechanismen. De resistentie door efflux, het M fenotype, betreft alle macroliden met 14 of 15 atomen, maar niet deze met 16 atomen en clindamycine (*mef*); de methylatie op ribosomaal niveau (*erm*), het  $MLS_B$  fenotype, kan constitutief of induceerbaar zijn. Het constitutief  $MLS_B$  fenotype betreft alle macroliden, clindamycine en streptogramine B; het induceerbaar  $MLS_B$  fenotype omvat 3 subtypes. Het mechanisme van de resistentie-inductie moet opgespoord worden met de dubbele disk methode op Mueller-Hinton agar, aangerijkt met 5% schapebloed: wanneer na een incubatie gedurende 18h op 35°C, waarbij de schijfjes van clindamycine (2 $\mu$ g) en erythromycine (15 $\mu$ g) op een afstand van 12-20 mm geplaatst werden, er een afplating van de gevoeligheidszone van clindamycine optreedt, suggereert dit het mechanisme van de induceerbare  $MLS_B$  resistentie; als de test deze afplating aantoonst moet het isolaat als resistent tegen clindamycine beschouwd worden. De triple disc methode, die ook een macrolide met 16 koolstofatomen bevat, is noodzakelijk om de 3 induceerbare subtypes op te sporen. Andere mechanismen zijn zeldzamer en er bestaat een zekere verwarring in de literatuur omtrent de betrokken genen, meer bepaald omtrent deze die geassocieerd zijn aan de methylatie van het 23S ribosomaal RNA (Roberts 1999). Er bestaat een goede correlatie tussen de fenotypes en genotypes, maar identieke fenotypes kunnen de expressie zijn van verschillende genen of de combinatie van mechanismen (Grivéa 2006).

### Prevalentie van de resistentie

De prevalentie van de resistentie tegen macroliden varieert van land tot land en regio tot regio, is variabel in de tijd en lijkt deels gebonden aan het gebruik van macroliden en al dan niet verwante antibiotica (Goossens abstract, Hsueh 2006). Hoewel de resistentie tegen macroliden in de VS niet als een probleem beschouwd wordt, zijn er in sommige regio's zeer hoge percentages van meer dan 5%, beschreven; bvb. 18% in Pittsburgh tijdens de winter van 2000-20001 (Martin 2002). In Finland werd een hoge prevalentie beschreven die een sterke daling vertoonde na de vermindering van het gebruik van macroliden en de diversificatie van de antibiotica (Seppala 1997). De prevalentie in Noorwegen lijkt daarentegen zeer laag, 1,6% (Kristiansen 2001); in andere Europese landen komen meer verontrustende percentages voor, 34,5% in Spanje (Perez 2005), 35,8% in Portugal (Melo 1999).

In België wijzen de gegevens van het referentiecentrum op een toename van de resistentie, meer bepaald sinds 1997. Hoewel de stammen invasiever waren in de periode 1993 tot 1994, bedroeg het resistentiepercentage van de stammen, die naar het referentiecentrum verstuurd werden 5,8% in 1993 en 1994 en 8,9% en 1997; het globale percentage van de retrospectieve studie bedraagt 6,5% (Descheemaeker 2000). Recentere gegevens afkomstig van 3866 stammen, geïsoleerd uit gevallen van faryngitis, wijzen op een resistentiepercentage van 13% tegen macroliden.

Een relatie met het verbruik van macroliden werd voor *Streptococcus pyogenes* gesuggereerd in Finland, en werd ook gesuggereerd in een Belgische studie (Goossens 2001). Het is moeilijk om de volledige verantwoordelijkheid voor de resistentietoename bij de macroliden te leggen, maar multi-pele studies hebben deze relatie aangetoond, net als een omgekeerde relatie (of ten minste een stabilisatie) wanneer de blootstelling aan macroliden verminderd werd. Nochtans blijkt deze vaststelling niet van toepassing op *S.pneumoniae* (Hsueh 2006), en evenmin overal ter wereld. De onderliggende moleculaire mechanismen en de oorzaken van de toename van klonen, die drager zijn van co-resistentie, werden onvoldoende bestudeerd (Perez)

## Resultaten en commentaren

De algemene performanties van de laboratoria zijn goed (2 mineure discordanties voor penicilline en de tetracycline-groep, 1 voor ofloxacine); sommige van deze fouten kunnen te wijten zijn aan aflees- of interpretatiefouten.

De mediane diameters zijn duidelijk kleiner dan de drempelwaarden voor de resistentie tegen macroliden en clindamycine. Voor de 3 discordante resultaten voor erythromycine (2 ROSCO, 1 CLSI) en de 2 voor clindamycine (1 met elke methode), kan men aflees- of interpretatiefouten niet uitsluiten. Met de CLSI methode bijvoorbeeld (tabel 4.1.2), wordt 1 resultaat als gevoelig voor erythromycine en 1 als gevoelig voor clindamycine geantwoord; nochtans spreiden de grenzen van de diameters bekomen door laboratoria die de lading vermeld hebben, zich voor erythromycine uit van 6-10 mm (resistentiedrempel  $\leq 15$  mm) en voor clindamycine van 6 tot 14 mm (resistentiedrempel  $\leq 15$  mm). De ruwe resultaten « S » bekomen met ROSCO werden in « R » veranderd voor clindamycine door 2 laboratoria en voor clindamycine en erythromycine door 2 andere laboratoria.

De gebruikte methoden en de keuze van de antibiotica vereisen eveneens enkele opmerkingen. Het rapport heeft enkel de meest resistente gegevens weerhouden wanneer een laboratorium contradictorische resultaten instuurde voor verschillende methoden (tenzij het labo het anders vermeldde).

De Vitek 2 is enkel gevalideerd voor de  $\beta$ -hemolytische streptokokken van groep B; de heterogene groei van *S.pyogenes* belet een interpretatie van het Vitek antibiogram en mag niet gebruikt worden. De praktijk waarbij de identificatie « *S.agalactiae* » ingebracht wordt om een interpretatie te bekomen moet verworpen worden.

Er werd geen enkele discordantie vastgesteld voor de stammen die getest werden met ATB, SIRSCAN en Phoenix; onder de enkele resultaten van de OSIRIS werd de klassieke discordantie met SXT vastgesteld (het laboratorium dat deze techniek gebruikte heeft terecht het ruwe resultaat « I » in « R » gewijzigd).

In de literatuur zijn er slechts weinig gevalideerde gegevens beschikbaar voor de E-test. Talrijke publicaties vermelden het regelmatige gebruik van de E-test maar ze zijn verward, slechts zelden vergelijkbaar en betreffen diverse antibiotica waaronder penicilline, chinolones, fusidinezuur en diverse macroliden. Er zijn slechts weinig studies gewijd aan het effect van een incubatie onder  $CO_2$  die de in vitro activiteit van macroliden verminderd. In vergelijkende studies werden weinig discordanties

vastgesteld tussen de disk-diffusie methode, de MIC bepaling in bouillon of op agar en de E-test (Melo 1999, Van Assel 1995).

Stevens heeft het effect van de combinatie van penicilline en clindamycine bestudeerd in experimentele infecties bij muizen en in vitro (Stevens 1998). In deze in vitro studie bedragen de gemiddelde MIC-waarden voor clindamycine 0,06 µg/ml voor de microdilutie en 0,16 µg/ml voor de E-test onder CO<sub>2</sub> (MBC 0,22 µg/ml). Een overzicht van deze studies wijst er op dat in geval van twijfel en wanneer de kliniek een MIC bepaling noodzakelijk maakt, de E-test vermoedelijk bruikbaar is (Martin 2002).

Twee stammen werden als intermediair aan penicilline gerapporteerd, één op basis van een diameter van minstens 25 mm met de CLSI methode (tabel 4.1.2) en één met de ROSCO methode (tabel 4.1.3). Het antwoord met de CLSI methode kan te wijten zijn aan een interpretatiefout gezien de gevoeligheidslimiet  $\geq 24$  mm is en de gerapporteerde grenswaarden variëren van 25 tot 46 mm. Men moet in elk geval de laboratoria aansporen om dergelijke resultaten te controleren met een MIC-bepaling via een referentiemethode of tenminste via de E-test en om deze stammen naar het referentiecentrum te versturen (de 3 beschikbare MIC-waarden voor penicilline, bekomen via de E-test, bewijzen de gevoeligheid van de stam, tabel 4.1.4). Wij herinneren er hier aan dat er nog geen enkele stam met resistentie tegen of verminderde gevoeligheid voor penicilline in België geïsoleerd werd.

Oxacilline mag niet gebruikt worden om de gevoeligheid voor penicilline te voorspellen voor andere streptokokken dan *S.pneumoniae*.

De resultaten van trimethoprim-sulfamethoxazole zouden niet gerapporteerd mogen worden, zelfs wanneer ze deel uitmaken van de « antibiotica-batterij », temeer daar vele discordanties optreden voor deze bacterie, die een natuurlijke resistentie tegen de associatie vertoont.

Het is moeilijk om momenteel op te leggen dat op b-hemoytische stammen van groep A, die niet uit diepe isolaties afkomstig zijn, een antibiogram dient uitgevoerd te worden, maar het lijkt verstandig om stammen regelmatig door het referentiecentrum te laten testen. Het is niettemin aanbevolen om regelmatig ten minste de gevoeligheid voor de macroliden te testen via een agar-diffusiemethode; aan laboratoria die niet systematisch een antibiogram bepalen, wordt aangeraden de stammen enkele dagen op kamertemperatuur te bewaren (opgelet: deze kiemen zijn van een fragiele natuur...).

## Behandeling

Het is een feit dat de behandeling van faryngitis ten minste voor een deel bijgedragen heeft tot de vermindering van suppuratieve complicaties en tot het afnemen van het acuut gewrichtsreuma (AGR). De behandeling draagt trouwens bij tot de vermindering van de verspreiding. In het verleden werd vastgesteld dat preventie van AGR optreedt indien de behandeling ingesteld wordt binnen de 9 dagen na de aanvang van de ziekte. Een gunstig effect op het verloop van de ziekte is slechts significant zo de behandeling zeer vroegtijdig ingesteld wordt (Pichichero 1987). Buiten de context van een epidemie, van het voorkomen van toxiciteitstekens of van het optreden van een geheel van tekens en symptomen die statistisch gezien veel voorkomen bij een streptokokkeninfectie, laat de kliniek niet toe om een zekerheidsdiagnose te stellen. De goede gewoonte van sommige pediaters om in geval van twijfel antibiotica voor te schrijven maar die door de ouders slechts te laten toedienen ingeval van een snel positief antwoord van het laboratorium, zou niet mogen verloren gaan; zeker niet indien het laboratorium een snelle detectietechniek gebruikt (antigeen opsporing, moleculaire biologie), die helaas in België niet terug betaald worden. Een andere houding die eveneens te verdedigen valt is om een empirische behandeling te starten en deze te stoppen indien de diagnose door het laboratorium niet bevestigd wordt.

De orale penicilline, penicilline V, gedurende 10 dagen, blijft de voorkeursbehandeling (fenoxymethylpenicilline: 25.000 E/kg/d in 4 doses;  $3 \times 10^6$  E bij de volwassene). Desondanks hebben vele studies aangetoond dat de orale cefalosporines, voornamelijk van de 1<sup>e</sup> generatie, een superioriteit vertonen in termen van onderdrukking van dragerschap en klinische respons (Casey 2004). Hoewel de methodologie van deze studie nauwgezet lijkt, bestaat er toch een zekere gereserveerdheid ten opzichte van de methodologie van de meta-analysen (Shulman 1994).

De ideale toedieningsfrequentie van de penicillines is 3 tot 4 maal/dag, hoewel sommige studies bewezen hebben dat een toediening van 2x500 mg Pen V efficiënt is bij grote kinderen en adolescenten. Slechts weinig studies hebben de impact van deze toediening in 2 doses op de bacteriële flora geëvalueerd. Amoxicilline (dat het voordeel heeft dat de siroop voor kinderen een aanvaardbare smaak heeft) heeft zeker een even grote, zometer grotere impact op de darmflora dan de cefalosporines; het is werkzaam bij een 2 maal daagse inname, maar bij een dosis van 45 mg/kg ligt de prijs van de behandeling lichtjes hoger dan deze van cefadroxil. Ten slotte, vele studies hebben de superioriteit van de orale cefalosporines over penicilline gerapporteerd, de cefalosporines van de 1<sup>e</sup> generatie mogen toegediend worden aan patiënten die aan een allergie van het niet onmiddellijke type lijden, ze kunnen 1x/d toegediend worden wat de compliantie bevordert, sommigen zijn goedkoop en het zijn dus zeker alternatieven voor penicilline (cefadroxil 30 mg/kg, 1g bij de volwassene).

De duur van 10 dagen kan teruggebracht worden tot 5 dagen met antibiotica als clarithromycine, azithromycine, cefuroxime, sommige orale cefalosporines van de 3<sup>e</sup> generatie, die in België niet gecommmercialiseerd worden (cefixime, ceftibuten, cefdinir, cefpodoxime). In de USA, zijn enkel cefdinir, cefpodoxime en azithromycine gevalideerd voor deze indicatie (Bisno 2005).

Benzathinebenzylpenicilline wordt voorbehouden voor patiënten die onmogelijk kunnen slikken, die spijsverteringsproblemen hebben of die geen compliantie vertonen (bij kinderen: 600.000 eenheden als het gewicht  $\leq 27$  kg is, 1.200.000 eenheden als het gewicht  $> 27$  kg is; bij adolescenten en volwassenen: 2.400.000 eenheden).

In geval van allergie aan penicilline of cefalosporines zijn de macroliden de keuzetherapie (erythromycine 20-40 mg/kg in 2 tot 4 doses, max 1g); de neomacroliden worden beter verdragen dan erythromycine, maar ze zijn duurder en ze zijn niet uitgesproken efficiënter.

Het is vanzelfsprekend dat ernstige, diepe infecties, net zoals sommige suppuratieve infecties, een parenterale therapie noodzakelijk maken.

### **Opmerking**

Deze stalen werden, in het kader van een vergelijkende studie, eveneens verstuurd in een enquête van CMPT (Clinical Microbiology Proficiency testing), Vancouver, Canada (o.l.v. Dr. M. Noble). De resultaten van de Canadese laboratoria zijn terug te vinden op [http://www.interchg.ubc.ca/cmpt/pdf\\_critiques\\_2005/m052\\_1\\_th\\_gas\\_aug\\_05.pdf](http://www.interchg.ubc.ca/cmpt/pdf_critiques_2005/m052_1_th_gas_aug_05.pdf)

F. Crockaert, J. Bordet Instituut , Brussel



## REFERENCES

- 1 Bisno AL, Stevens DL. 2005. *Streptococcus pyogenes*. In Principles and Practice of Infectious Diseases (6th edition). Gerald L Mandell, John E Bennett, Raphael Dolin. Churchill Livingstone Inc, New York 2000;p. 2364-68
- 2 Brandt CM, Haase G, Schnitzler N, Zbinden R, Lütticken R. 1999. Characterization of Blood Culture Isolates of *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* Possessing Lancefield's Group A Antigen. *J. Clin. Microbiol.* 37 :4194-4197.
- 3 CLSI/NCCLS 2005. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 15<sup>th</sup> informational supplement. M100-S15 vol.25n°1. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- 4 Carapetis JR, Steer AC, Mulholland EK, Weber M. 2004. The global burden of group A streptococcal diseases. *Lancet Infectious Diseases* 5:685-694.
- 5 Casey JR, Pichichero ME. 2004. Meta-analysis of cephalosporin versus penicillin treatment of group A streptococcal tonsillopharyngitis in children. *Pediatrics* 113:866-882.
- 6 Cunningham MW. 2000. Pathogenesis of Group A Streptococcal Infections. *Clin. Microbiol. Reviews.* 13: 470-511.
- 7 Davignon L, Walter EA, Mueller KM, Barrozo CP, Stenger DA, Lin B, on behalf of the Epidemic Outbreak Surveillance Consortium. Use of Resequencing Oligonucleotide Microarrays for Identification of *Streptococcus pyogenes* and Associated Antibiotic Resistance Determinants. *J. Clin. Microbiol.* 43:5690-5695.
- 8 Descheemaeker P, Chapelle S, Lammens C, Hauchecorne M, Wijdooghe M, Vandamme P, Ieven M, Goossens H. 2000. Macrolide resistance and erythromycin resistance determinants among Belgian *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus pneumoniae* isolates. *J of Antimicrob. Chemother.* 45:167-73.
- 9 Ekelund K, Darenberg J, Norrby-Teglund A, Hoffmann S, Bang D, Skinhoj P, Konradsen HB. 2005. Variations in emm type among group A streptococcal isolates causing invasive or noninvasive infections in a nationwide study. *J. Clin. Microbiol.* 43:3101-9.
- 10 Evaluation externe de la qualité des analyses en Biologie Clinique. Enquêtes 2000-3 e t 2003-3.
- 11 Facklam R. 2002. What Happened to the Streptococci: Overview of Taxonomic and Nomenclature Changes. *Clin. Microbiol. Reviews* 15:613-630.
- 12 Goossens H, Lammens C, Lontie M, Stalpaert M, André M, Van Pelt H, Dellanoy P, Drion S, Hendrickx E. 2001. *Streptococcus pyogenes* (S py) resistance to erythromycin (ERY) in relation to mechanisms of resistance, genotype, and Consumption to macrolides (M). ICAAC 41<sup>st</sup> Chicago, # C2-1314abstract consomma macrolides
- 13 Grivea IN, Al-Lahham A, Katopodis GD, Syrogiannopoulos GA, Reinert RR. 2006. Resistance to erythromycin and telithromycin in *Streptococcus pyogenes* isolates obtained between 1999 and 2002 from Greek children with tonsillopharyngitis: phenotypic and genotypic analysis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50:256-61
- 14 Hsueh P.-R., Shyr J.-M. and Wu J.-J. 2006. Changes in macrolide resistance among respiratory pathogens after decreased erythromycin consumption in Taiwan. *Clin Microbiol and Infect.* 12:296-298
- 15 Kristiansen BE, Sandnes RA, Mortensen L, Tveten Y, Vorland L. 2001. The prevalence of antibiotic resistance in bacterial respiratory pathogens from Norway is low. *Clin. Microbiol. Infect.* 7:682-7 ds Bacterio\Strepto\streptoABEtest-biblio
- 16 Lamagni TL, Efstration A, Vuopio-Varkila J, Jasir A, Schalén C. 2005. Eurosurveillance [www.eurosurveillance.org](http://www.eurosurveillance.org). 10 :179-184
- 17 Malhotra-Kumar S, Wang S, Lammens C, Chapelle S, Goossens H. 2003. Bacitracin-Resistant Clone of *Streptococcus pyogenes* Isolated from Pharyngitis Patients in Belgium. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41: 5282-5284.
- 18 Malhotra-Kumar S, Lammens C, Chapelle S, Wijdooghe M, Piessens J, Van Herck K, Goossens H. 2005. Macrolide- and telithromycin-resistant *Streptococcus pyogenes*, Belgium, 1999-2003. *Emerg. Infect. Dis.* 11(6):939-42

- 19 Martin JM, Green M, Barbadora KA, Wald ER. 2002. Erythromycin-resistant group A streptococci in schoolchildren in Pittsburgh. *N Engl J Med.* 346:1200-6.
- 20 Melo-Cristino J, Fernandes ML. 1999. *Streptococcus pyogenes* isolated in Portugal: macrolide resistance phenotypes and correlation with T types. Portuguese Surveillance Group for the Study of Respiratory Pathogens. *Microb. Drug. Resist.* 5:219-25.
- 21 Perez-Trallero E, Garcia-de-la-Fuente C, Garcia-Rey C, Baquero F, Aguilar L, Dal-Re R, Garcia-de-Lomas J; Spanish Surveillance Group for Respiratory Pathogens. 2005. Geographical and ecological analysis of resistance, coresistance, and coupled resistance to antimicrobials in respiratory pathogenic bacteria in Spain. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49:1965-72.
- 22 Pichichero ME, Disney FA, Talpey WB, Green JL, Francis AB, Roghmann K.J, Hoekelman RA. 1987. Adverse and beneficial effects of immediate treatment of group A beta-hemolytic streptococcal pharyngitis with penicillin. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1987;6:635-643.
- 23 Roberts MC, Sutcliffe J, Courvalin P, Jensen LB, Rood J, Seppala H. 1999. Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:2823-2830.
- 24 Seppala H, Klaukka T, Vupio-Varkila J et al. 1997. The effect of changes in the consumption of macrolide antibiotics on erythromycin resistance in group A streptococci in Finland. Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance. *N. Engl. J. Med.* 337: 491-492.
- 25 Shulman ST, Gerber MA, Tanz RR, Markowitz M. Streptococcal pharyngitis: the case for penicillin therapy. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1994;13:1-7
- 26 Stevens D, Madaras-Kelly KJ, Richard DM. 1998. *Antimicrob. Agents Chemother.*
- 27 Van Asselt GJ, Sloos JH, Mouton RP, Van Boven CP, Van de Klundert JA. 1995. Susceptibility of *Streptococcus pyogenes* to azithromycin, clarithromycin, erythromycin and roxithromycin in vitro. *J Med Microbiol.* 43:386-91

### 2.3. De stam van cultuur M/6354 was een *Nocardia nova*.

De *Nocardia* maken deel uit van de aërobe actinomycetalen, samen met andere nocardioformen waarvan zij onderscheiden moeten worden: *Rhodococcus*, *Dietzia*, *Gordonia* en *Tsukamurella*. Vanwege hun gedeeltelijke zuurvastheid, moeten ze eveneens onderscheiden worden van mycobacteriën met snelle groei.

De *Nocardia* zijn gram positieve bacillen, polymorf, vaak filamenteus, met vertakkingen en fragmentatie in coccoïde elementen. Zij vertonen een gedeeltelijke zuurvastheid van zeer variabele intensiteit (die echter slechts zelden afwezig is). Ze groeien gemakkelijk na 1 tot 3 dagen op de klassieke bodems, die geen antibiotica bevatten. De kolonies vormen een mycelium («spider colonies»), vaak een luchtmycelium («aerial mycelium»). Deze mycelia kunnen zeer overvloedig aanwezig zijn en zijn dan met het blote oog zichtbaar als een soort van wit «donsdeken»-achtig tapijt; ze kunnen echter ook slechts in geringe hoeveelheid aanwezig zijn waarbij ze enkel met een loep kunnen vastgesteld worden. Bovendien verschijnen ze niet altijd zeer snel, noch zijn ze aanwezig op alle culturen; ze ontbreken echter slechts zelden. Hun aanwezigheid vormt een belangrijk element in de identificatie vermits ze niet voorkomen bij de hoger vermelde nocardioformen, noch bij de snel groeiende mycobacteriën. De kolonies zelf hebben vaak een oker- of zalmkleur, die echter gemaskeerd kan zijn door de overvloedige aanwezigheid van het luchtmycelium. Ze kunnen moeilijk in emulsie gebracht worden, maar vormen hierbij korrels of membranen.

*Nocardia* zijn katalase positief, aëroob en vergisten geen suikers, doch ze kunnen deze wel verzuren door oxidatie.

Meer dan 40 species van *Nocardia* zijn beschreven maar velen daarvan worden niet aangetroffen bij de mens (of er zijn momenteel slechts één of enkele isolaties van gerapporteerd). Tot voor kort werd *N. asteroides* beschouwd als het frequentste species. Het is echter gebleken dat deze een heterogeen complex vormde dat onlangs verdeeld werd in verschillende nieuwe species zodat *N. asteroides* «sensu stricto» slechts zelden geïsoleerd wordt. Ondanks het grote aantal species, heeft een recente studie aangetoond dat ongeveer 95% van de in België geïsoleerde stammen tot slechts 5 species behoren: *N. farcinica*, *N. nova* (die samen ongeveer 2/3 van de isolaties vormen), *N. cyriacigeorgica*, *N. abscessus* en *N. brasiliensis*. Hoewel de speciesidentificatie moeilijk is in het routinelaboratorium, laten enkele eenvoudige testen, samen met het gevoeligheidsprofiel tegenover enkele antibiotica (in dit geval uitgevoerd met een diagnostisch doel) een oriëntatie tussen de meest voorkomende species toe. Ze worden samengevat in volgende tabel:

Gelatine	Ureum	PYR <sup>1</sup>	γ-Glut <sup>2</sup>	Amoxy	Amoxyclav	Cefotax Ceftriaxone	Cipro	Erythro Clarithro	Tobra	Imip
-	+	+	+	R	S	R	S/R	R	R	S
-	v	+	-	S	I/R	I/R	R	S	I/R	S
-	-	-	+	I/R	I/R	S	R	R	S	S
-	+	-	+	S	S	S	R	S/R	S	S/R
+	+	-	+	R	S	I/R	R	R	S	R

*N. farcinica*  
*N. nova*  
*N. cyriacigeorgica*  
*N. abscessus*  
*N. brasiliensis*

<sup>1</sup>: = pyrrolidonyl aminopeptidase.

<sup>2</sup>: = γ-glutamyl aminopeptidase.

Gezien het overzicht van de hierboven vermelde stammen, is het mogelijk een vermoedelijke identificatie uit te voeren: enkel *N. farcinica* en *N. nova* zijn pyrrolidonyl aminopeptidase positief; de eerste is altijd resistent tegen macroliden (erythromycine of clarithromycine), de tweede is er altijd gevoelig voor. Een stam die gelatine of caseïne hydrolyseert en resistent is tegen imipenem, is vrijwel zeker *N. brasiliensis*. *N. cyriacigeorgica* is urease negatief en altijd resistent tegen ciprofloxacine en de macroliden maar gevoelig voor tobramycine. Dit zijn slechts enkele voorbeelden.

De gevoeligheidsbepaling voor antibiotica kan uitgevoerd worden door de diskdiffusiemethode of door de bepaling van de MIC via E-test. Zoals hoger vermeld kan het antibiotype gebruikt worden als hulp bij de speciesidentificatie van *Nocardia*. Hoewel alle *Nocardia* stammen  $\beta$ -lactamasen (waarvan er verschillende types bestaan) secreteren, bestaat er een belangrijke interspecies variabiliteit in de gevoeligheid voor  $\beta$ -lactams. Dit wordt verklaard door de verschillen in activiteiten-profiel van de  $\beta$ -lactamasen, die bij *Nocardia* aangetroffen worden, en door een variabiliteit in de PBPs van de bacteriewand en membranaire permeabiliteit. Gevoeligheid voor ampicilline en een paradoxale resistentie tegen amoxicilline-clavulaanzuur wordt typisch aangetroffen bij *N. nova*. *N. farcinica* daarentegen is resistent tegen amoxicilline en de 3<sup>e</sup> generatie cefalosporinen maar gevoelig voor amoxicilline-clavulaanzuur. *N. brasiliensis* vertoont een constante resistentie tegen de carbapenems terwijl ongeveer de helft van de *N. abscessus* stammen resistent is tegen deze antibiotica. Ook het gevoeligheids/resistentie profiel voor macroliden (erythromycine, clarithromycine), tobramycine en fluorochinolonen (ciprofloxacine) is zeer nuttig voor een eerste approximatieve oriëntatie in de identificatie van de species die het frequentst voorkomen in de kliniek.

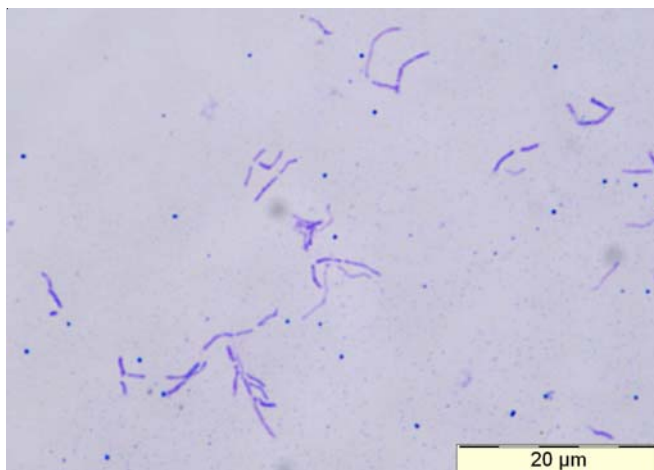
*Nocardia* kunnen verschillende klinische beelden geven en treffen vooral verzwakte of immuungedepimeerde patiënten maar kunnen ook posttraumatische infecties geven bij gezonde patiënten. Het frequentst zijn de respiratoire lokalisaties, doch er worden ook mycetomen, suppuratieve infecties, zowel oppervlakkig als diep (bvb. hersenabcessen) vastgesteld. In zeldzame gevallen kan een veralgemeende sepsis optreden. Hoewel er geen speciesgebonden specificiteit van de pathologische manifestaties bestaat, worden sommige klinische beelden meer aangetroffen bij bepaalde species. Meerdere auteurs beschouwen *N. farcinica* als meer invasief en een meerderheid van de septicemieën kunnen hieraan toegeschreven worden. *N. brasiliensis* wordt daarentegen over het algemeen aangetroffen in lokale infecties, wondinfecties of abcedaties en mycetomen.

De behandeling van nocardiosen berust op empirische aanbevelingen, gezien de afwezigheid van goed gecontroleerde klinische studies. De voorkeurtherapie bestaat uit de associatie sulfamide-trimethoprim (cotrimoxazole). Gezien de noodzaak aan een langdurige behandeling (klassiek 6 maanden), de vaak matige tolerantie aan deze associatie en de beschrijving van gevallen van therapiefalen, werden nochtans andere, in vivo actieve, antibioticaklassen gebruikt met klinisch succes. De therapeutische alternatieven zijn meestal de associatie van een  $\beta$ -lactam met amikacine; meer bepaald blijken de associaties imipenem + amikacine of ceftriaxone + amikacine het meest actief en deze moeten worden aanbevolen. De associatie amoxicilline-clavulaanzuur werd eveneens met succes gebruikt. Tot slot bieden de tetracyclines, meer bepaald minocycline, vele voordelen (orale absorptie die een toediening per os toelaat voor de langdurige behandelingen, goede cerebrale diffusie, geringe toxiciteit) die van hen eveneens goede kandidaten maken in geval van contra-indicatie voor cotrimoxazole.

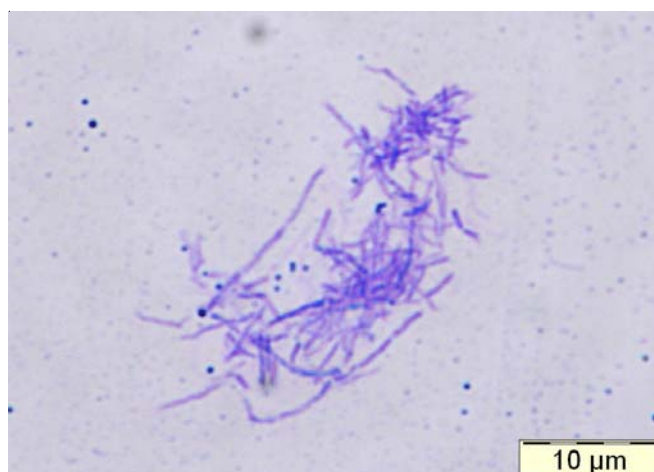
Van de chinolonen heeft enkel ciprofloxacine een voldoende doeltreffendheid, doch deze varieert naargelang het species (cfr. tabel) en het gebruik ervan in de kliniek kan enkel in aanmerking genomen worden na falen van andere moleculen en op basis van de resultaten van het antibiogram. Zelfs als *N.nova* gevoelig is voor macroliden, zijn vele *Nocardia* species intrinsiek resistent aan deze antibioticafamilie, die dan ook klinisch van geen belang is.

De grote meerderheid van de deelnemers aan de enquête hebben *Nocardia* sp. geantwoord, waarbij ze zich beperken tot een genusidentificatie, wat volkomen aanvaardbaar is voor het klinisch laboratorium. Desalniettemin tonen de voorgaande gegevens aan dat het met enkele eenvoudige testen en het gevoeligheidsprofiel, mogelijk is tot een meer precieze vermoedelijke identificatie te komen.

Prof. G. Wauters, Prof. Y. Glupczynski



Figuur 2.1. *Nocardia nova* (staal van deze enquête)



Figuur 2.2. *Nocardia nova* (staal van deze enquête)

## 2.4. Stam/Isolaat M5983 was een *Burkholderia multivorans*, een species uit het *Burkholderia cepacia*-complex,

en was (niet toevallig) afkomstig uit respiratoire secreties van een patiënt met cystic fibrosis (CF) of mucoviscidose. Voor de CF patiënt is, net zoals de eerste vondst van *P. aeruginosa* in zijn luchtwegsecreties, de kolonisatie met *B. cepacia* (BC) een bijzonder verontrustende boodschap.

BC is een 'ubiquitaire non-fermenter die niet frequent voorkomt in klinische stalen, maar die recent speciale aandacht kreeg omwille van de zojuist genoemde associatie, en waarbij studies leidden tot nieuwe taxonomische inzichten en dus naamswijzigingen.

In de praktijk blijkt het vaak mee te vallen met de herkenbaarheid van deze soort: in ieder geval werd de rondgestuurde stam door het overgrote deel van de deelnemers correct op naam gebracht. In deze bijdrage wordt aangetoond dat deze identificatie best wordt bevestigd met extra technieken of in een referentie labo.

### Taxonomie.

Uit het grote genus *Pseudomonas* dat zo'n 100 jaar geleden werd gemaakt zijn door beter taxonomisch inzicht allerlei nieuwere genera afgesplitst zoals *Burkholderia*, *Stenotrophomas*, *Ralstonia* e.a.

Tot het genus *Burkholderia* behoren de humane pathogeen *B. pseudomallei* (verwekker van melioïdose, met als belangrijke bron de rijstvelden van Indochina), de dierpathogeen *B. mallei* (verwekker van 'glanders') en een reeks niet pathogenen of opportunisten zoals *B. gladioli* en het *B. cepacia* complex.

In de literatuur sprak men tot recent over het *B. cepacia*-complex, omdat het hier gaat om een reeks verwante bacteriën, maar de 9 genomovars zijn inmiddels als afzonderlijke species erkend: *B. cepacia*, *Burkholderia multivorans*, *Burkholderia cenocepacia*, *Burkholderia stabilis*, *Burkholderia vietnamiensis*, *Burkholderia dolosa*, *Burkholderia ambifaria*, *Burkholderia anthina* en *Burkholderia pyrrocinia*.

De stammen die bij CF patiënten worden gevonden behoren tot alle species maar 80 à 90 % zijn *Burkholderia cenocepacia* en *Burkholderia multivorans*.

### Identificatie en detectie

#### - Voorlopige identificatie van *B. cepacia* complex

De identificatie is niet zo moeilijk, eens de bacterie is gekweekt, vooral als die voorkomt in reinkulturen. Detectie van BC gaat minder vlot in stalen waarin ook andere species aanwezig zijn, vooral *P. aeruginosa* (in vroege stadia van CF kolonisatie als grote snel groeiende kolonies, in latere stadia vaak met variabele kolonies (groter en kleiner, meer of minder mucoid)). Daarentegen kan het 2-4 dagen duren eer de *B. cepacia* kolonies zijn gegroeid; en op McConkey is het kolonie-uitzicht zeer variabel. Indien het niet zou ingebouwd zijn in de basistechniek van het laboratorium om stalen van CF patiënten langer dan 48H te incuberen, moet de vraag naar opsporing van *Burkholderia* gepreciseerd worden door de clinicus.

Er bestaat een 3-tal selectieve bodems waarvan *B. cepacia* selective agar (BCSA) het beste scoort. Deze laatste bodem wordt door sommigen routinematig gebruikt bij het kweken van CF-monsters. Zoals zo vaak is de bodem echter niet absoluut specifiek en moet men de identificatie met andere middelen bevestigen.

- definitieve identificatie:

tot op species niveau is in het routine-labo praktisch niet te verwezenlijken, maar is belangrijk omwille van prognose, behandeling en isolatie-maatregelen. Dit alles natuurlijk in het kader van CF, en gebeurt, zoals voor deze stam is gedaan, dan best in een referentie labo (<http://www.iph.fgov.be/epidemiologie/epinl/plabnl/plabannl/index.htm>)

## Epidemiologie

Species uit het *B. cepacia* complex komen overal voor in de natuur, in de bodem, oppervlakte wateren en op groenten en fruit. Het is niet onlogisch dat de relatieve frequentie van elke soort verschillend is volgens habitat, maar vaste patronen liggen nog niet vast. Er is aangetoond dat deze soorten goed bestand zijn tegen vijandige leefomstandigheden, o.m. antiseptica.

In de medische microbiologie zien we BC zelden. Deze groep is nauwelijks pathogeen voor de menselijke gastheer. De zeldzame opportunistische infecties (maar ook pseudo-outbreaks) zijn geassocieerd met gecontamineerd 'steriel water' en medicatie, gebruikt in de patiëntenzorg.

Om één of andere reden doet *B. cepacia* het uitstekend in de luchtwegen van CF - patiënten, waar de normale anatomie en de fysiologie zwaar gecompromitteerd is. Omwille van het specifieke karakter van de ziekte worden in de meeste landen de CF-patiënten opgevolgd en verzorgd in specifieke CF-centra (in België zijn er een 7-tal erkend). Voorts worden CF patiënten ook wel gegroepeerd in specifieke centra voor intense begeleiding of voor vakantie. Als gevolg hiervan zijn er, vooral vroeger, zeker problemen van kruisinfectie geweest. Door specifieke maatregelen worden deze kruisinfecties nu zoveel mogelijk voorkomen. Vaak zijn de consultatie dagen (en zelfs vakanties) voor *P.aeruginosa* positieve CF personen nu gescheiden van de negatieven, en men probeert dit ook door te voeren voor MRSA en *B. cepacia*.

Kolonisatie van de luchtwegen vertoont veel gelijkenissen met kolonisatie door *P.aeruginosa*: als gevolg van hygiënische maatregelen en aangetoond door fingerpinting heeft men het aantal patiënten die met één clone zijn besmet zien verminderen, en in veel centra hebben de meeste patiënten hun eigen stam, of nauwkeuriger gezegd een reeks eigen, opeenvolgende stammen. Deze stammen komen dus vermoedelijk uit de omgeving van de patiënt, maar men slaagt er praktisch nooit in de juiste bron aan te tonen bij één individu.

De frequentie van kolonisatie van CF patiënten door *B. cepacia* wisselt nogal volgens centrum. Ook de epidemische patronen variëren: in sommige centra zijn de stammen niet-verwant, in andere zien we een overwicht van bepaalde clones. Het is zeer waarschijnlijk dat lokale hygiëne procedures, maar ook stam-verschillen daarvoor verantwoordelijk zijn

Zeer berucht is de engelse stam ET12. Deze clone is sterk geassocieerd met het '*B.cepacia* -syndroom', gekenmerkt door snelle deteriorisatie van de longfunctie en mortaliteit; histologisch ziet men typische micro-abcessen.

Het is vermoedelijk niet zo dat de distributie van *Burkholderia spp.* in CF de frequentie van de verschillende species in de natuur weerspiegelt, maar eerder een betere aanpassing van deze soorten aan de nieuwe economie.



Zoals reeds gezegd is de epidemiologie van *B. cepacia* vermoedelijk zeer analoog aan die van *P.aeruginosa*. De frequentie is minder groot, en de kolonisatie komt in een later 'stadium'. In sommige gevallen ziet men een successief verschijnen van verschillende stammen, in sommige centra een snelle verspreiding van een succesvolle clone.

Tenslotte iets over de situatie in België. Uit bespreking van de recente situatie en de gepubliceerde gegevens blijkt dat het BC probleem in België eigenlijk minimaal is voor het ogenblik (lage incidentie, geen clonale verspreiding, niet-virulente stammen).

### **Gevoeligheid voor antibiotica, en behandeling**

BC is in de regel resistent aan vele antibiotica, en sommige stammen zijn multi-resistent, met ernstige behandelings-problemen als gevolg.

Daarbij komt dat alleen een deel van de antibiotica als gevalideerd beschouwd worden bij gebruik van het diffusie antibiogram. Voor CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, de nieuwe naam voor NCCLS) zijn in het document M100-S15 (antibiogram standaards, versie januari 2005) uit te testen antibiotica beperkt tot ceftazidime, meropenem (voor beide met aparte breekpunten), minocycline en trimethoprim-sulfamethoxazole. Met het dilutie-antibiogram kan men veel meer antibiotica testen.

### **Microbiologie van CF-stalen.**

De microbiologie van respiratoire kolonisatie en infectie bij CF is complex. Schematisch krijgt men een opeenvolging van volgende microbiota:

- De klassieke luchtweg-pathogenen *H.influenzae*, pneumokokken *M.catarrhalis* maar ook enterobacteriaceae en *S.aureus*
- blijvende aanwezigheid van *S.aureus* en enterobacteriaceae, groei-deficiënte stammen met atypische, vaak bizarre fenotypie (bv. *E.coli* groeiend op McConkey, niet op TSA en bloed-agar)
- naderhand *P.aeruginosa*: een cruciaal stadium
- atypische en mucoïde *P.aeruginosa* stammen: belangrijke aantallen stammen, niet identificeerbaar met klassieke technieken. Verborgen door de mucoïde kolonies nieuwe kolonisaties met non-fermenters
- *B. cepacia* (*complex*), virulente en minder-virulente clones
- door blijvende antibioticum-druk en afwijkende anatomie/histologie ten slotte ook *Achromobacter xylosoxidans*, *S. maltophilia* en andere non-fermenters
- MRSA: echte *mecA* positieve, of 'valse' (*mecA* negatief, doorgroei rond oxa-1 of cefox-25 disk) MRSA
- kolonisatie met één of meer schimmel stammen (*Aspergillus* spp., *Pseudallescheria*)

De verwerking van CF-sputum stalen vormt dus een echte uitdaging. Door de grote frequentie van deze moeilijke isolaten wordt er door sommigen aanbevolen identificatie uit te voeren met DNA-technieken. Tenslotte is er nog het probleem van de klinische betrouwbaarheid van het antibiogram van vele stammen (trage groei, afwijkende condities van uitvoering, niet-gevalideerde antibioticum-kiem combinaties...).

**Besluit:**

- de juiste species identificatie van deze stam is *B.multivorans* maar in de praktijk is *B. cepacia complex* ook correct, en is *B. cepacia*, gezien de 'historische context' volledig aanvaardbaar.
- in de praktijk steunt de voorlopige identificatie van *B. cepacia* op het vinden van een oxidase-positieve non-fermenter, die groeit op selectieve *B.cepacia*-agar, en waarbij men met een (meestal commercieel) systeem tot de vermoedelijke identificatie komt. Omwille van epidemiologische redenen is het wenselijk de stammen van CF-patiënten naar het referentie centrum te sturen.

G. Claeys, UZ, Gent

## REFERENTIES

1. Melissa B. Miller and Peter H. Gilligan Laboratory Aspects of Management of Chronic Pulmonary Infections in Patients with Cystic Fibrosis *Journal of Clinical Microbiology*, September 2003, p. 4009-4015, Vol. 41, No. 9
2. Tom Coenye , Peter Vandamme, John R. W. Govan, and John J. LiPuma Taxonomy and Identification of the *Burkholderia cepacia* Complex *Journal of Clinical Microbiology*, October 2001, p. 3427-3436, Vol. 39, No. 10
3. Lipuma JJ. Update on the *Burkholderia cepacia* complex. *Curr Opin Pulm Med*. 2005 Nov;11(6):528-33.
4. Patrick R. Murray , Ellen Jo Baron, James H. Jorgensen, Michael A. Pfaller, Robert H. Yolken. *Manual of Clinical Microbiology*, Eighth Edition (American Society for Microbiology).
5. Revets H, Vandamme P, Van Zeebroeck A, De Boeck K, Struelens MJ, Verhaegen J, Ursi JP, Verschraegen G, Franckx H, Malfroot A, Dab I, Lauwers S. *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia* and cystic fibrosis: the epidemiology in Belgium. *Acta Clin Belg*. 1996;51(4):222-30.

### III. RESULTATEN VAN DE IDENTIFICATIES (N=201)

De correcte of aanvaardbare resultaten zijn onderlijnd.

#### 3.1. Cultuur M/6410 *Escherichia coli* O157 (stoelgang)

Dit staal wordt als een didactisch staal beschouwd; voor een beoordeling van de verschillende antwoorden verwijzen wij naar de bespreking onder punt 2.1.

<i>Escherichia coli</i> O157	74
<i>Escherichia coli</i> O157 EHEC	21
<i>Escherichia coli</i> O157 STEC	3
<i>Escherichia coli</i> O157 EPEC	2
<i>Escherichia coli</i> O157 H7	17
<i>Escherichia coli</i> O157 H7 EHEC	5
<i>Escherichia coli</i> O157 H7 VTEC	2
<i>Escherichia coli</i> O157 H7 (-)	3
<i>Escherichia coli</i> O157 H-	1
<i>Escherichia coli</i> O157 K- EHEC	2
<i>Escherichia coli</i> O17 H7 EHEC	1
Sorbitol negatieve <i>Escherichia coli</i>	3
Sorbitol negatieve <i>Escherichia coli</i> : doorsturen*	4
Pathogene <i>Escherichia coli</i>	3
<i>Escherichia coli</i>	8
<i>Escherichia coli</i> : doorsturen*	11
<i>Escherichia coli</i> EHEC	15
<i>Escherichia coli</i> EPEC	7
<i>Escherichia coli</i> VTEC	2
<i>Escherichia coli</i> STEC	1
<i>Escherichia coli</i> EIEC	1
<i>Escherichia fergusonii</i>	1
<i>E. coli</i> en <i>Enterococcus sp.</i> ; geen pathogeen	1
O157 H7 wordt niet opgespoord in labo	
Geen pathogene kiem geïsoleerd	6
Geen pathogene kiem geïsoleerd	1
doorstuur in kader van outbreak	
Negatief	2
Geen coprocultuur in labo	3
Geen antwoord	1

\* De laboratoria die «doorsturen» geantwoord hebben, deden dit omdat zij een vermoeden van *E. coli* O157, *E. coli* O157 H7, EHEC, of andere willen laten bevestigen in het referentiecentrum (en niet omdat zij systematisch elke *E. coli* afkomstig uit stoelgang doorsturen); omwille van vereenvoudiging van bovenstaande tabel zijn al deze laboratoria onder de noemer «doorsturen» samengevoegd.

### 3.2. Cultuur M/6411 *Streptococcus pyogenes* (keelwisser)

<u><i>Streptococcus pyogenes</i></u>	171 (85.1%)
<u><math>\beta</math>-hemolytische <i>Streptococcus</i> groep A</u>	21 (10.4%)
<u><i>Streptococcus</i> groep A</u>	8 (4.0%)
<i>Streptococcus milleri</i>	1

### 3.3. Cultuur M/6354 *Nocardia nova* (sputum)

<u><i>Nocardia</i> species</u>	174 (86.6%)
<u><i>Nocardia nova</i></u>	1 (0.5%)
<i>Nocardia asteroides</i>	11
<i>Burkholderia cepacia</i>	3
<i>Actinomyces</i> species	2
<i>Rhodococcus</i> species	2
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	1
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>mycoides</i>	1
<i>Corynebacterium</i> species	1
<i>Flavobacterium</i> species	1
<i>Gordona bronchialis</i>	1
Gram positieve bacil niet geïdentificeerd in labo	1
Geen antwoord	2

### 3.4. Cultuur M/5983 *Burkholderia multivorans*, een species uit het *Burkholderia cepacia*-complex (sputum)

<u><i>Burkholderia cepacia</i></u>	181 (90.0%)
<u><i>Burkholderia cepacia</i> complex</u>	7 (3.5%)
<u><i>Burkholderia cepacia multivorans</i></u>	1
<u><i>Burkholderia multivorans</i></u>	2
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	1
<i>Pseudomonas cepacia</i>	2
<i>Nocardia</i> species	3
<i>Chryseomonas luteola</i>	2
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1
Geen antwoord	1

## IV. ANTIBIOGRAM

Een algemeen overzicht van de resultaten per staal wordt gegeven bij het begin van de bespreking van ieder staal. In de verdere verwerking worden de resultaten geanalyseerd naargelang methode. Een aantal laboratoria bepaalde geen antibiogram voor één van beide kiemen: 10 laboratoria bepaalden geen antibiogram voor M/6411 en twee deden dit niet voor M/5983. Eén laboratorium bepaalde voor geen van beide kiemen een antibiogram. Het type antibiogram werd opgesteld door verschillende experts.

### 4.1 Cultuur M/6411 *S. pyogenes* (keelwisser)

Aantal deelnemers = 190

Er werd voor deze enquête aan de laboratoria de keuze gelaten deze antibiotica te testen welke zij in routine testen voor *S. pyogenes* (het aantal antibiotica werd beperkt tot 5; nochtans hebben sommige laboratoria er meer getest). Een aantal van de laboratoria verklaarden geen antibiogram te bepalen voor *S. pyogenes* gezien alle stammen gevoelig zijn voor penicilline; sommige laboratoria vermeldden het commentaar dat in deze omstandigheden op het rapport aan de aanvragende arts gepubliceerd wordt (waarbij alternatieven vermeld worden in geval van penicilline resistentie); sommige verklaarden in geval van diepe infecties wel een antibiogram voor deze kiem uit te voeren. Ook van de laboratoria die wel een antibiogram uitvoerden, verklaarden verscheidene dat ze in routine voor *S. pyogenes* uit een keelwisser geen antibiogram zouden bepalen.

Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid met meer dan 1 methode; meestal kwamen deze resultaten overeen; waar dit niet het geval was, werd er geopteerd om in onderstaande tabel het meest resistente resultaat weer te geven, tenzij het laboratorium een opmerking toevoegde welk resultaat zij uiteindelijk aan de aanvrager zouden rapporteren.

In onderstaande tabellen werden alle antibiotica opgenomen die door de laboratoria getest werden.

Tabel 4.1.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/6411 (*S. pyogenes*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R
Penicilline	S	154	152	2	-
Oxacilline	S	6	6	-	-
Ampicilline	S	47	47	-	-
Amoxicilline	S	20	-	-	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	S	20	20	-	-
Cefalosporine 1e generatie <sup>1</sup>	S	1	1	-	-
Cefadroxil	S	6	6	-	-
Cefalexine	S	1	1	-	-
Cefalotine	S	13	13	-	-
Cefazoline	S	13	13	-	-
Cefuroxime	S	9	9	-	-
Cefotaxime	S	19	19	-	-
Ceftriaxone	S	3	3	-	-
Cefepime	S	3	3	-	-
Erythromycine	R	169	3	-	166
Clarithromycine	R	11	-	-	11
Azithromycine	R	2	-	-	2
Clindamycine	R	120	2	-	118
Tetracycline	S	47	46	1	-
Doxycycline	S	43	42	1	-
Minocycline	S	2	2	-	-
Ciprofloxacin	S	6	6	-	-
Levofloxacin	S	28	28	-	-
Moxifloxacin	S	5	5	-	-
Norfloxacin	S	1	1	-	-
Ofloxacin	S	5	4	1	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole		28	17	2	9
Vancomycine		25	25	-	-
Chloramfenicol		2	2	-	-
Quinopristine-Dalfopristine		1	1	-	-
Rifampicine		1	1	-	-
Linezolid		1	1	-	-

<sup>1</sup> Eén laboratorium vermeldde de naam van het gebruikte cefalosporine van de 1<sup>e</sup> generatie niet

Een aantal laboratoria vermeldden dat het staal een constitutieve  $MLS_B$  resistentie vertoonde.

Het in de tabellen 4.1.2. tot en met 4.1.9 weergegeven resultaat is het finale resultaat, na eventuele wijziging via toepassing der expert-regels.

Niet alle deelnemers vermeldden de gebruikte methode of lading. Voor zover deze aangegeven werd door de deelnemers, hebben wij voor de schijfjesmethode volgens CLSI en ROSCO (NEO-SENSITABS) mediaan, minimum en maximum diameter bepaald. Sommige deelnemers vermeldden een andere lading dan de aangewezen lading of vermeldden de lading niet; deze laboratoria werden niet in de berekening der medianen, minimum en maximum opgenomen. Er dient opgemerkt dat een aantal laboratoria bij groei tot tegen het schijfje een diameter gelijk aan «nul» rapporteren. Nochtans is het aangewezen dat in dergelijke gevallen geen «nul» geantwoord wordt, doch de diameter van het schijfje gerapporteerd wordt. Deze resultaten werden evenmin in aanmerking genomen in de hiernavolgende tabellen.

Tabel 4.1.2. Bekomen diameters met de schijfjesmethode volgens CLSI voor staal M/6411 (*S. pyogenes*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline	29 (37)	10	32	25 - 46	36	1	-
Oxacilline	1 (1)	1	25	25 - 25	1	-	-
Ampicilline	18 (19)	10	31	25 - 40	19	-	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	5 (5)	20+10	36	18 - 40	5	-	-
Cefalexine	1 (1)	30	26	26 - 26	1	-	-
Cefalotine	3 (4)	30	29	26 - 30	4	-	-
Cefazoline	2 (2)	30	33.5	27 - 40	2	-	-
Cefuroxime	3 (3)	30	32	26 - 36	3	-	-
Ceftriaxone	1 (1)	30	31	31 - 31	1	-	-
Cefepime	1 (2)	30	30	30 - 30	1	-	-
Erythromycine	36 (42)	15	6	6 - 10	1	-	41
Clarithromycine	6 (6)	15	6	6 - 7	-	-	6
Azithromycine	1 (1)	15	7	7 - 7	-	-	1
Clindamycine	27 (31)	2	6	6 - 14	1	-	30
Tetracycline	14 (14)	30	26	21 - 40	13	1	-
Doxycycline	3 (6)	30	28	25 - 30	6	-	-
Ciprofloxacin	2 (3)	5	26	22 - 30	3	-	-
Levofloxacin	9 (11)	5	22	18 - 26	11	-	-
Ofloxacin	2 (2)	5	19.5	19 - 20	1	1	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole	1 (1)	1.25+23.75	25	25 - 25	1	-	-
Vancomycine	8 (10)	30	20	17 - 23	10	-	-
Chloramfenicol	- (1)	-	-	-	1	-	-
Linezolid	1 (1)	30	26	26 - 26	1	-	-



Tabel 4.1.3. Bekomen diameters met de schijfjesmethode volgens ROSCO voor staal M/6411 (*S. pyogenes*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	
Penicilline	76 (79)	5	31	24 - 40	78	1	-	-
Oxacilline	7 (7)	1	24	18 - 30	4	-	-	3
Ampicilline	27 (27)	33	36	26 - 45	26	-	-	1
Amoxycilline	16 (16)	30	34.5	25 - 46	16	-	-	-
Amoxycilline-clavulaanzuur	14 (15)	30+15	35	24 - 46	15	-	-	-
Cefadroxil	6 (6)	30	27.5	20 - 36	6	-	-	-
Cefalotine	9 (9)	66	34	30 - 37	9	-	-	-
Cefazoline	10 (10)	60	33	24 - 42	10	-	-	-
Cefuroxime	5 (6)	60	34	29 - 40	6	-	-	-
Cefotaxime	5 (6)	30	36	33 - 41	6	-	-	-
Ceftriaxone	2 (2)	30	33	32 - 34	2	-	-	-
Cefepime	1 (1)	30	33	33 - 33	1	-	-	-
Erythromycine	81 (94)	78	10	9 - 31	2	-	92	-
Azithromycine	1 (1)	30	9	9 - 9	-	-	1	-
Clarithromycine	4 (5)	30	10	9 - 10	-	-	5	-
Clindamycine	57 (63)	25	10	9 - 30	1	-	62	-
Tetracycline	15 (20)	80	30	26 - 34	20	-	-	-
Doxycycline	34 (35)	80	30	22 - 42	34	1	-	-
Minocycline	- (1)	-	-	-	1	-	-	-
Ciprofloxacin	2 (3)	10	23.5	23 - 24	3	-	-	-
Levofloxacin	5 (6)	5	24	20 - 35	6	-	-	-
Moxifloxacin	2 (3)	5	23.25	19.5 - 27	3	-	-	-
Ofloxacin	2 (3)	10	21	20 - 23	3	-	-	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole	17 (20)	5.2+240	30	9 - 38	13	-	7	-
Vancomycine	7 (11)	5	20	17 - 26	11	-	-	-
Rifampicine	1 (1)	30	40	40 - 40	1	-	-	-

\* Drie laboratoria hebben de resultaten van de gevoeligheidsbepaling via Rosco schijfjes voor oxacilline gebruikt om de gevoeligheid van penicilline te antwoorden. Eén laboratorium gebruikte ampicillineschijfjes om de penicilline gevoeligheid te antwoorden.

De resultaten die met de E-test bekomen werden, zijn samengevat in onderstaande tabel 4.1.4. Gezien het geringe aantal gebruikers van deze techniek voor de bepaling van de gevoeligheid van de kiem M/6411 is een statistisch zinvolle verwerking onmogelijk.

Tabel 4.1.4. Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor staal M/6411 (*S. pyogenes*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Penicilline	3	-	-
Erythromycine	-	-	2

De resultaten bekomen met de Vitek worden weergegeven in tabel 4.1.5.

Tabel 4.1.5. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/6411 (*S. pyogenes*).

Antibioticum	Vitek 1				Vitek 2					
	Finaal resultaat		Meest vermelde verdunning	Aantal labos dat deze verdunning vermelde (Totaal aantal gebruikers)	Finaal resultaat		Meest vermelde verdunning	Aantal labos dat deze verdunning vermelde (Totaal aantal gebruikers)		
	S	I			R	S			I	R
Penicilline	1	-	-	-	- (1)	2	-	-	≤ 0.12	1 (2)
Ampicilline	1	-	-	-	- (1)	-	-	-	-	-
Cefotaxime	-	-	-	-	-	1	-	-	-	- (1)
Erythromycine	-	-	-	-	-	-	-	2	≥ 8	1 (2)
Clindamycine	-	-	-	-	-	-	-	2	0.5	1 (2)
Tetracycline	-	-	-	-	-	1	-	-	≤ 1	1 (1)
Norfloxacin	1	-	-	-	- (1)	-	-	-	-	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole	-	-	-	-	-	-	1	-	-	- (1)
Vancomycine	-	-	-	-	-	1	-	-	≤ 1	1 (1)

De resultaten bekomen met de ATB methode worden weergegeven in tabel 4.1.6. De meeste laboratoria antwoordden enkel het resultaat (S, I of R) en gaven geen waarden weer.

Tabel 4.1.6. Resultaten bekomen met de ATB methode voor M/849 (*C. koseri*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Penicilline	2	-	-
Cefotaxime	10	-	-
Erythromycine	-	-	20
Clindamycine	-	-	19
Tetracycline	10	-	-
Doxycycline	1	-	-
Levofloxacin	10	-	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole	3	-	-
Vancomycine	3	-	-
Chloramfenicol	1	-	-
Quinopristine-Dalfopristine	1	-	-

De resultaten bekomen met de toestellen Osiris, Phoenix en Sirscan worden weergegeven in tabel 4.1.7. tot en met 4.1.9. Er zijn momenteel nog te weinig gebruikers van deze toestellen om de kwantitatieve resultaten statistisch zinvol te verwerken. Indien het aantal gebruikers toeneemt, zal dit uiteraard wel het geval zijn.

Tabel 4.1.7. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/6411 (*S. pyogenes*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Penicilline	5	-	-
Ampicilline	2	-	-
Cefotaxime	1	-	-
Erythromycine	-	-	5
Clindamycine	-	-	3
Tetracycline	1	-	-
Doxycycline	1	-	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole	1	-	-
Vancomycine	1	-	-

Tabel 4.1.8. Resultaten bekomen met de Phoenix voor staal M/6411 (*S. pyogenes*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Penicilline	3	-	-
Amoxycilline	2	-	-
Erythromycine	-	-	3
Clindamycine	-	-	1
Tetracycline	2	-	-
Levofloxacin	1	-	-
Moxifloxacin	1	-	-

Tabel 4.1.9. Resultaten bekomen met de Sirscan voor staal M/6411 (*S. pyogenes*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Penicilline	3	-	-
Oxacilline	1	-	-
Ampicilline	2	-	-
Amoxycilline	1	-	-
Erythromycine	-	-	4
Clindamycine	-	-	3
Tetracycline	1	-	-
Doxycycline	2	-	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole	-	-	2
Vancomycine	1	-	-

Tot slot dient vermeld dat:

- 1 laboratorium de gevoeligheid aan penicilline, erythromycine en clindamycine bepaalde met Mini Api
- 1 laboratorium verklaarde dat penicilline en de 1<sup>e</sup> generatie cefalosporinen gevoelig waren op basis van extrapolatie van oxacilline (zonder dit oxacilline-resultaat te vermelden)
- zes laboratoria niet vermeldden welke techniek zij gebruikt hebben ter bepaling van de gevoeligheid voor één of meer antibiotica.

De meeste laboratoria behielden het ruw resultaat voor het antwoorden van het finale resultaat. Toch wijzigden enkele laboratoria het ruw resultaat, al dan niet op basis van expert regels:

- 1 laboratorium wijzigde een ruw resultaat «I» naar finaal «R» voor trimethoprim-sulfamethoxazole (Osiris)
- 1 laboratorium wijzigde de ruwe resultaten «S» (Rosco) en «I» (Vitek 2) naar finaal «R» voor clindamycine; een ander wijzigde voor hetzelfde antibioticum «S» naar «R» (Rosco)
- 2 laboratoria wijzigden voor erythromycine en clindamycine een ruw resultaat «R» naar een finaal resultaat «S» (1 laboratorium voor de schijfjesmethode en het andere voor Rosco)

## 4.2 Cultuur M/5983 *Burkholderia cepacia* (sputum)

Aantal deelnemers = 198

Drie laboratoria antwoorden geen antibiogram voor M/5983; sommige verklaarden dit door te verwijzen naar het ontbreken van een Vitek kaart voor *Burkholderia*.

Een aantal laboratoria verklaarden de gevoeligheid van deze *Burkholderia cepacia* bepaald te hebben na een incubatie van 18-24h op 30°C.

Niet alle deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor alle antibiotica. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid met meer dan 1 methode; meestal kwamen deze resultaten overeen; waar dit niet het geval was, werd er geopteerd om in onderstaande tabel het resultaat van de MIC bepaling weer te geven.

Tabel 4.2.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/5983 (*Burkholderia cepacia*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Ceftazidime	S	192	182	7	2	1 <sup>5</sup>
Meropenem	S	167	95 <sup>3</sup>	51	20	1 <sup>5</sup>
Imipenem <sup>1</sup>		14	1	-	13	-
Minocycline	S	62	51	3	8	-
Doxycycline <sup>2</sup>		27	27	-	-	-
Tetracycline <sup>2</sup>		15	3	8 <sup>4</sup>	4	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole	S	194	190	-	4	-

<sup>1</sup> Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid aan imipenem in plaats van aan meropenem.

<sup>2</sup> Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid aan doxycycline en/of tetracycline in plaats van aan minocycline. Een aantal van deze laboratoria vermeldde echter wel dat deze resultaten niet geëxtrapoleerd mogen worden en de gevoeligheid aan minocycline afzonderlijk bepaald dient te worden.

<sup>3</sup> Eén laboratorium vermeldde dat het resultaat voor meropenem «S» was maar dat dit vergezeld zou worden van de opmerking «Finaal advies voor meropenem: gebruik hoge dosis 3x2 g; gebruik in combinatie-therapie; geen 1e keuzepreparaat; doe zo nodig MIC».

<sup>4</sup> Eén laboratorium gaf het resultaat «I» voor tetracycline maar vergezelde dit van de expliciete opmerking dat minocycline of doxycycline nog gevoelig kunnen zijn.

<sup>5</sup> Eén laboratorium vermeldde dat voor *B. cepacia* de disk-diffusie methode en de MIC-bepaling op Vitek 2 niet de meest aangewezen methoden zijn en dat met de bekomen ruwe resultaten («S» voor beide technieken en «I» voor de E test voor ceftazidime; voor meropenem «R» voor schijfjes en «S» voor Vitek 2 en E test) de aanvrager gecontacteerd zou worden om de therapeutische mogelijkheden en de limieten van de gebruikelijke posologieën te bespreken.

Het in de tabellen 4.2.2. tot en met 4.2.9 weergegeven resultaat is het finale resultaat, na eventuele wijziging via toepassing der expert-regels.

Niet alle deelnemers vermeldde de gebruikte methode of lading. Voor zover deze aangegeven werd door de deelnemers, hebben wij voor de schijfjesmethode volgens CLSI en ROSCO (NEO-SENSITABS) mediaan, minimum en maximum diameter bepaald. Sommige deelnemers vermeldde een andere lading dan de aangewezen lading of vermeldde de lading niet; deze laboratoria werden niet in de berekening der medianen, minimum en maximum opgenomen. Er dient opgemerkt dat een aantal laboratoria bij groei tot tegen het schijfje een diameter gelijk aan «nul» rapporteren. Nochtans is het aangewezen dat in dergelijke gevallen geen «nul» geantwoord wordt, doch de diameter van het schijfje gerapporteerd wordt. Deze resultaten werden evenmin in aanmerking genomen in de hiernavolgende tabellen.

Tabel 4.2.2. Bekomen diameters met de schijfjesmethode volgens CLSI voor staal M/5983 (*Burkholderia cepacia*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*1
Ceftazidime	33 (37)	30	29	19 - 32	34	2	-	1
Meropenem	30 (32)	10	19.5	6 - 28	19	5	7	1
Imipenem	3 (4)	10	6	6 - 6	-	-	4	-
Minocycline	15 (15)	30	20	14 - 25	11	2	2	-
Doxycycline	4 (6)	30	18	17 - 20	6	-	-	-
Tetracycline	3 (3)	30	15	13 - 15	-	2	1	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole	31 (37)	1.25+23.75	24	15 - 28	37	-	-	-

<sup>1</sup> Eén laboratorium vermeldde dat voor *B. cepacia* de disk-diffusie methode en de MIC-bepaling op Vitek 2 niet de meest aangewezen methoden zijn en dat met de bekomen ruwe resultaten («S» voor beide technieken en «I» voor de E test voor ceftazidime; voor meropenem «R» voor schijfjes en «S» voor Vitek 2 en E test) de aanvrager gecontacteerd zou worden om de therapeutische mogelijkheden en de limieten van de gebruikelijke posologieën te bespreken.

Tabel 4.2.3. Bekomen diameters met de schijfjesmethode volgens ROSCO voor staal M/5983 (*Burkholderia cepacia*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	S/I	I	R
Ceftazidime	83 (87)	30	30	18 - 42	86	-	1	-
Meropenem	65 (69)	10	26	9 - 34	58	1	3	7
Imipenem	9 (10)	15	12	9 - 20	1	-	-	9
Minocycline	42 (43)	80	29	9 - 35	38	-	1	4
Doxycycline	21 (21)	80	30	25 - 32	21	-	-	-
Tetracycline	11 (11)	80	24	12 - 25	3	-	6	2
Trimethoprim-sulfamethoxazole	83 (90)	5.2+240	40	29 - 55	87	-	1	2

De resultaten die met de E-test bekomen werden, zijn samengevat in onderstaande tabel 4.2.4. Gezien het geringe aantal gebruikers van deze techniek voor de bepaling van de gevoeligheid van de kiem M/5983 is een statistisch zinvolle verwerking onmogelijk.

Tabel 4.2.4. Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor staal M/5983 (*Burkholderia cepacia*).

Antibioticum	Resultaat			
	S	I	R	*
Ceftazidime	4	-	-	1
Meropenem	2	-	1	1
Minocycline	1	-	-	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole	1	-	-	-

\* Eén laboratorium vermeldde dat voor *B. cepacia* de disk-diffusie methode en de MIC-bepaling op Vitek 2 niet de meest aangewezen methoden zijn en dat met de bekomen ruwe resultaten («S» voor beide technieken en «I» voor de E test voor ceftazidime; voor meropenem «R» voor schijfjes en «S» voor Vitek 2 en E test) de aanvrager gecontacteerd zou worden om de therapeutische mogelijkheden en de limieten van de gebruikelijke posologieën te bespreken.

De resultaten bekomen met de Vitek worden weergegeven in tabel 4.2.5.

Tabel 4.2.5. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/5983 (*Burkholderia cepacia*).

Antibioticum	Vitek 1					Vitek 2					
	Finaal resultaat		Meest vermelde verdunning	Aantal labos dat deze verdunning vermelde (Totaal aantal gebruikers)	Finaal resultaat			Meest vermelde verdunning	Aantal labos dat deze verdunning vermelde (Totaal aantal gebruikers)		
	S	I			R	S	I			R	*
Ceftazidime	-	1	1	16	1 (2)	44	2	-	1	4	32 (47)
Meropenem	-	-	2	≥ 16	1 (2)	7	36	2	1	4	19 (46)
Minocycline	-	-	1	-	- (1)	-	-	-	-	-	-
Tetracycline	-	-	1	≥ 16	1 (1)	-	-	-	-	-	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole	1	-	1	≤ 10	1 (2)	46	-	-	-	≤ 20	38 (46)

\* Eén laboratorium vermeldde dat voor *B. cepacia* de disk-diffusie methode en de MIC-bepaling op Vitek 2 niet de meest aangewezen methoden zijn en dat met de bekomen ruwe resultaten («S» voor beide technieken en «I» voor de E test voor ceftazidime; voor meropenem «R» voor schijfjes en «S» voor Vitek 2 en E test) de aanvrager gecontacteerd zou worden om de therapeutische mogelijkheden en de limieten van de gebruikelijke posologieën te bespreken.

In de meeste gevallen is de 'meest vermelde verdunning' de enige die vermeld werd door de deelnemers; een aantal laboratoria vermeldde immers de gevonden verdunning niet. Uiteraard waren er laboratoria die één verdunning verschillend van de meest vermelde, gevonden hebben. In enkele gevallen werd een grotere afwijking gevonden met Vitek 2:

- voor ceftazidime vond 1 laboratorium een verdunning van 1 mg/l en 1 laboratorium een verdunning van 16 mg/l
- voor meropenem vond 1 laboratorium een verdunning van 0.5 mg/l, 1 laboratorium een verdunning van ≤ 2 mg/l en 1 laboratorium een verdunning van > 32 mg/l
- voor trimethoprim-sulfamethoxazole vond 1 deelnemer een verdunning van 5 mg/l en 1 laboratorium een verdunning van ≥ 32 mg/l

We moeten nog vermelden dat 1 laboratorium de Vitek 2 compact gebruikte en voor ceftazidime en trimethoprim-sulfamethoxazole een resultaat «S» vond en voor meropenem een resultaat «I».

De resultaten bekomen met de ATB methode worden weergegeven in tabel 4.2.6. De meeste laboratoria antwoordden enkel het resultaat (S, I of R) en gaven geen waarden weer.

Tabel 4.2.6. Resultaten bekomen met de ATB methode voor M/5983 (*Burkholderia cepacia*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Ceftazidime	13	1	1
Meropenem	10	2	2
Trimethoprim-sulfamethoxazole	15	-	-

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.2.7.

Tabel 4.2.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor staal M/5983 (*Burkholderia cepacia*).

Antibioticum	Resultaat			Meest vermelde verdunning	Aantal labos dat deze verdunning vermelde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Ceftazidime	7	-	-	8	5 (7)
Meropenem	3	4	-	8	4 (7)
Trimethoprim-sulfamethoxazole	7	-	-	≤ 0.5/9.5	7 (7)

De resultaten bekomen met de toestellen Osiris en Sirscan worden weergegeven in tabel 4.2.8. tot en met 4.2.9. Er zijn momenteel nog te weinig gebruikers van deze toestellen om de kwantitatieve resultaten statistisch zinvol te verwerken. Indien het aantal gebruikers toeneemt, zal dit uiteraard wel het geval zijn.

Tabel 4.2.8. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/5983 (*Burkholderia cepacia*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Ceftazidime	5	-	-
Meropenem	1	-	2
Minocycline	-	1	-
Tetracycline	-	1	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole	4	-	1

Tabel 4.2.9. Resultaten bekomen met de Sirscan voor staal M/5983 (*Burkholderia cepacia*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Ceftazidime	3	-	-
Meropenem	2	-	1
Minocycline	1	-	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole	3	-	-

Tot slot dient vermeld dat:

- 4 laboratoria niet vermeldden welke techniek zij gebruikt hebben ter bepaling van de gevoeligheid voor één of meer antibiotica

De meeste laboratoria behielden het ruw resultaat voor het antwoorden van het finale resultaat. Toch wijzigden enkele laboratoria het ruw resultaat, al dan niet op basis van expert regels:

- meropenem
  - o S -> I: 23 laboratoria voor Vitek 2 en 1 voor Rosco
  - o S -> I/S: 1 laboratorium voor Rosco
  - o S -> R: 1 laboratorium voor Rosco en 1 voor de schijfjesmethode
  - o I -> R: 1 laboratorium (methode niet vermeld)
- minocycline
  - o S -> R: 2 laboratoria voor Rosco
  - o I -> R: 1 laboratorium voor Rosco en 1 voor de schijfjesmethode



- tetracycline
  - o S -> I: : 1 laboratorium voor de schijfjesmethode
  - o I -> R: 1 laboratorium voor Rosco
- trimethoprim-sulfamethoxazole
  - o S -> R: 1 laboratorium voor Rosco

## V. PARASITOLOGIE

### 5.1. De monsters

Er werden 2 fecessuspensies in formol verstuurd: P/6242 en P/6243.  
Er namen 195 laboratoria deel aan deze enquête.

Het aantal toolkit gebruikers bedroeg 31%. Wij zouden willen vragen om zoveel mogelijk van deze antwoordmogelijkheid gebruik te maken. Bovendien een snellere verwerking, biedt de toolkit tevens het voordeel dat een aantal fouten vermeden kunnen worden: schrijffouten, gebruik van oudere codes, encodagefouten,...

De monsters waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

P/6242:

Vrouw van 26 jaar die na haar terugkeer uit Guinea (Conakry) diarree heeft.

P/6243:

Feces van een adoptiekindje uit India.

Staal P/6242 bevatte cysten van *Endolimax nana*, *Chilomastix mesnili*, *Entamoeba coli* en *Blastocystis hominis*.

Staal P/6243 bevatte cysten van *Giardia lamblia* en eieren van *Hymenolepis nana*.

## 5.2. De resultaten

### 5.2.1 Staal P/6242

De 195 laboratoria leverden 453 antwoorden in. 38 laboratoria antwoordden één parasiet, 72 antwoordden 2 parasieten, 66 antwoordden 3 parasieten en 18 antwoordden 4 parasieten. Eén laboratorium antwoordde «afwezigheid van parasieten».

De antwoorden worden in onderstaande tabel weergegeven :

Tabel 5.2.1. Parasieten geantwoord voor staal P/6242

Resultaat	Aantal
<i>Entamoeba coli</i>	173
<i>Blastocystis hominis</i>	124
<i>Endolimax nana</i>	80
<i>Chilomastix mesnili</i>	38
<i>Entamoeba hartmanni</i>	10
<i>Entamoeba histolytica</i>	7
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	5
<i>Ascaris lumbricoides</i>	4
<i>Giardia lamblia</i> , <i>G.intestinalis</i>	2
<i>Iodamoeba butschlii</i>	2
<i>Cryptosporidium parvum</i>	1
<i>Entamoeba dispar</i> of <i>histolytica</i>	1
<i>Entamoeba gingivalis</i>	1
<i>Entamoeba polecki</i>	1
<i>Hymenolepis diminuta</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i>	1
<i>Toxocara cati</i>	1
Afwezigheid van parasieten	1
Totaal	453

De combinaties van parasieten welke door de laboratoria geantwoord werden, worden in onderstaande tabellen weergegeven :

Tabel 5.2.2. Combinatie van 2 parasieten geantwoord voor staal P/6242

Combinatie van parasieten	Aantal
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	41
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Endolimax nana</i>	15
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	2
<i>Endolimax nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i>	3
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	2
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	2
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Cryptosporidium parvum</i>	1
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Entamoeba histolytica</i>	1
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Giardia lamblia</i>	1
<i>Entamoeba dispar</i> of <i>histolytica</i> + <i>Entamoeba gingivalis</i>	1
<i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Iodamoeba butschlii</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis nana</i>	1
Totaal	72

Tabel 5.2.3. Combinatie van 3 parasieten geantwoord voor staal P/6242

Combinatie van parasieten	Aantal
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Endolimax nana</i>	38
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	14
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	3
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	4
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Iodamoeba butschlii</i>	1
<i>Blastocystis hominis</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Entamoeba histolytica</i>	1
<i>Endolimax nana</i> + <i>Chilomastix mesnili</i> + <i>Entamoeba polecki</i>	1
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i> + <i>Entamoeba histolytica</i>	1
<i>Blastocystis hominis</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i> + <i>Toxocara cati</i>	1
<i>Endolimax nana</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i> + <i>Hymenolepis diminuta</i>	1
Totaal	66

Tabel 5.2.4. Combinatie van 4 parasieten geantwoord voor staal P/6242

Combinatie van parasieten	Aantal
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	14
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Chilomastix mesnili</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	4
Totaal	18

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Entamoeba coli*, *Blastocystis hominis*, *Endolimax nana* en *Chilomastix mesnili* worden in volgende tabellen weergegeven. Voor *Endolimax nana* waren er 2 laboratoria die 2 evolutiestadia vermeld hebben.

Tabel 5.2.5. Evolutiestadia voor *Entamoeba coli* voor staal P/6242

Evolutiestadium	Aantal
Cyste	168
Oöcyste	2
Trofozoïet	2
Ei	1
Totaal	173

Tabel 5.2.6. Evolutiestadia voor *Blastocystis hominis* voor staal P/6242

Evolutiestadium	Aantal
Cyste	90
Niet gepreciseerd	14
Trofozoïet	11
Oöcyste	6
Vegetatieve vorm	2
Ei	1
Totaal	124

Tabel 5.2.7. Evolutiestadia voor *Endolimax nana* voor staal P/6242

Evolutiestadium	Aantal
Cyste	79
Vegetatieve vorm	2
Ei	1
Totaal	82

Tabel 5.2.8. Evolutiestadia voor *Chilomastix mesnili* voor staal P/6242

Evolutiestadium	Aantal
Cyste	38
Totaal	38

### 5.2.2 Commentaar

Wij verwijzen voor de bespreking naar punt 5.4 en ook naar de globale rapporten 2000/2 voor *Entamoeba coli*, 2002/3 voor *Endolimax nana* en 2004/3 voor *Blastocystis hominis*.

### 5.3. Staal P/6243

#### 5.3.1 Resultaat

De 195 laboratoria leverden 384 antwoorden in. 9 laboratoria antwoordden één parasiet, 183 antwoordden 2 parasieten en 3 antwoordden 3 parasieten.

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.3.1. Resultaten voor staal P/6243

Resultaat	Aantal
<i>Hymenolepis nana</i>	188
<i>Giardia lamblia</i> , <i>G.intestinalis</i>	184
<i>Blastocystis hominis</i>	3
<i>Hymenolepis diminuta</i>	2
<i>Taenia saginata</i>	2
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1
<i>Endolimax nana</i>	1
<i>Entamoeba coli</i>	1
<i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Heterophyes heterophyes</i>	1
Totaal	384

De combinaties van parasieten welke door de laboratoria geantwoord werden, worden in onderstaande tabellen weergegeven :

Tabel 5.3.2. Combinatie van 2 parasieten geantwoord voor staal P/6243

Combinatie van parasieten	Aantal
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis nana</i>	175
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis diminuta</i>	2
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Taenia saginata</i>	2
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Heterophyes heterophyes</i>	1
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Endolimax nana</i>	1
Totaal	183

Tabel 5.3.3. Combinatie van 3 parasieten geantwoord voor staal P/6243

Combinatie van parasieten	Aantal
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	2
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis nana</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	1
Totaal	3

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Giardia lamblia* en *Hymenolepis nana* worden in volgende tabellen weergegeven :

Tabel 5.3.4. Evolutiestadia voor *Giardia lamblia* voor staal P/6243

Evolutiestadium	Aantal
Cyste	181
Ei	2
Trofozoïet	1
Totaal	184

Tabel 5.3.5. Evolutiestadia voor *Hymenolepis nana* voor staal P/6243

Evolutiestadium	Aantal
Ei	180
Cyste	6
Oöcyste	1
Vegetatieve vorm	1
Totaal	188

### 5.3.2 Commentaar

Wij verwijzen voor de bespreking naar punt 5.4 en ook naar de globale rapporten 2002/3 voor *Hymenolepis nana* en 2003/3 voor *Giardia lamblia*.

#### 5.4. Commentaar op de resultaten en betreffende de parasieten

Het bewaren van cysten van protozoa is moeilijk. Zelf in met formol gefixeerde faecesstalen gaat de morfologie van deze cysten langzaam maar zeker verloren. De bewaring van cysten van *Blastocystis hominis* is nog kritischer. De cysten van de meeste stammen van *B. hominis* lyseren zeer snel (sommige al na enkele uren) ook in gefixeerde faecesstalen. Dit alles maakt dan ook dat het niet eenvoudig om geschikte stalen te vinden voor een QC van parasitologie in faeces.

Het fotograferen van protozoaire elementen wordt fel bemoeilijkt door de beperkte dieptescherpte van de immersie-objectieven (noodzakelijk gezien de vrij kleine afmetingen van deze elementen). Bij het bekijken van protozoa vormt men zich immers door constant micrometren een ruimtelijk beeld van de cyste of trofozoïet met alle diagnostisch belangrijke details zoals uitzicht van de kern met geblokke chromatine (*Endolimax nana*) of met een centraal karyosoom plus perifere chromatine (*Entamoeba* spp). Mooie fotografische opnames zijn dan ook dikwijls enigszins aan het toeval te wijten. De digitale foto's bieden dan ook veel mogelijkheden gezien hun nagenoeg onbeperkte opnamecapaciteit.

Praktische richtlijnen voor het uitvoeren van een parasitologisch faecesonderzoek vindt men ondermeer in het uitstekende handboek van Garcia (2) en op de website van het CDC (5).

Het staal (P/6242) van een Belgische vrouw van 26 jaar na terugkeer uit Guinea (Conakry) bevatte een multitude aan protozoa. Het is perfect mogelijk dat sommige protozoa (ondermeer door de onmogelijkheid om het staal perfect homogeen te maken) slechts door enkele deelnemers werden teruggevonden. Enkele maanden tevoren, bij een vroeger bezoek aan België, bevatte haar stoelgang ook nog zeer veel cysten van *Giardia lamblia*. De aanwezigheid van deze diversiteit aan protozoa (in het staal van deze QC) is waarschijnlijk eerder een «symptoom» dan de oorzaak van haar intestinale problemen. In ieder geval tonen ze aan dat ze in een omgeving verbleef waar de opportuniteit voor de transmissie van intestinale protozoa (pathogenen, niet-pathogenen en opportunisten) aanwezig was (4). Mogelijks is deze vrouw (relatief) deficiënt aan secretair IgA zoals werd vooropgesteld voor infecties met *Giardia lamblia* (3).

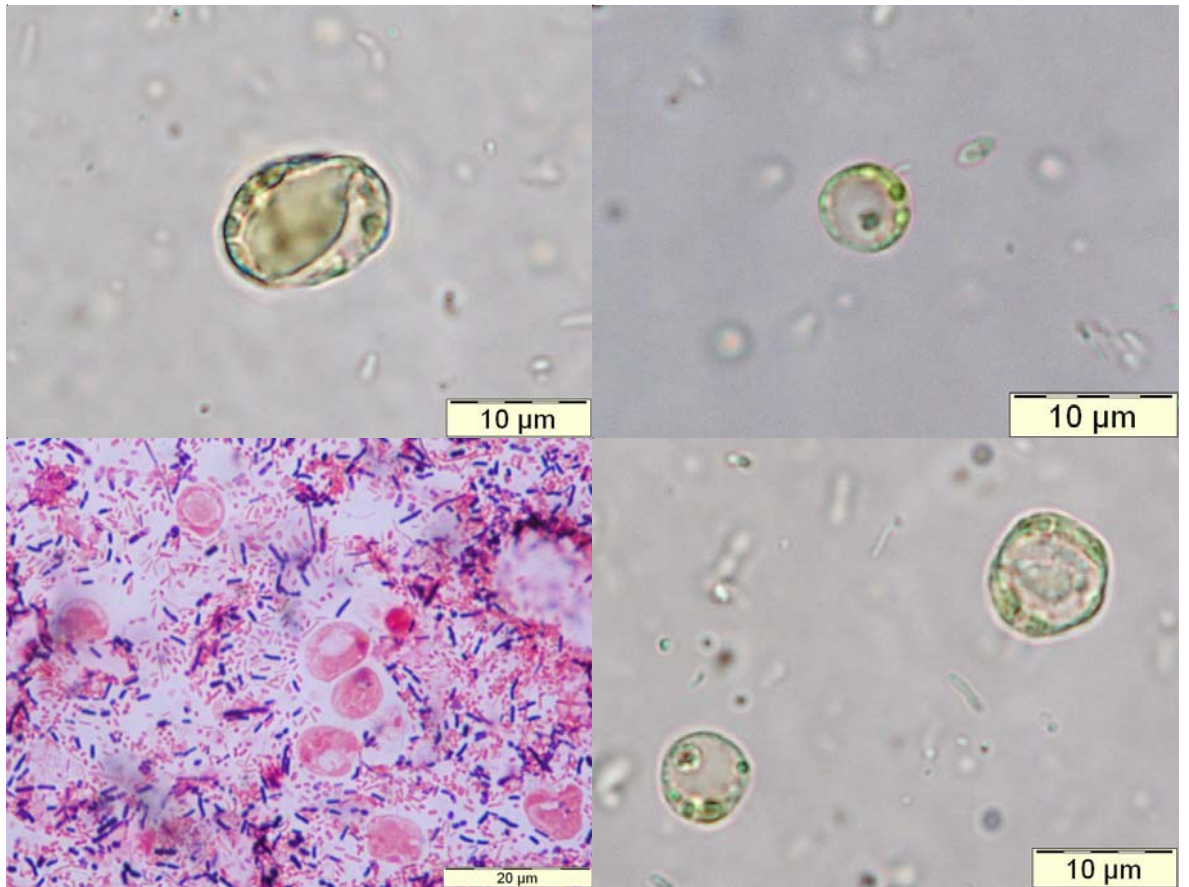
De aanwezigheid van *Hymenolepis nana* en van *Giardia lamblia* (P/6243) is geen zeldzaamheid bij adoptiekinderen uit diverse werelddelen (in dit geval een kindje uit India). *H. nana* is auto-infectieus wat de infectie uiteraard zeer gemakkelijk in stand houdt (cf. rapport QC 2002/3).

Hierna geven we een beschrijving aan de hand van enkele microfotografische opnamen van de voornaamste protozoa en *Hymenolepis nana*, aanwezig in de stalen van deze enquête.



### *Blastocystis hominis*

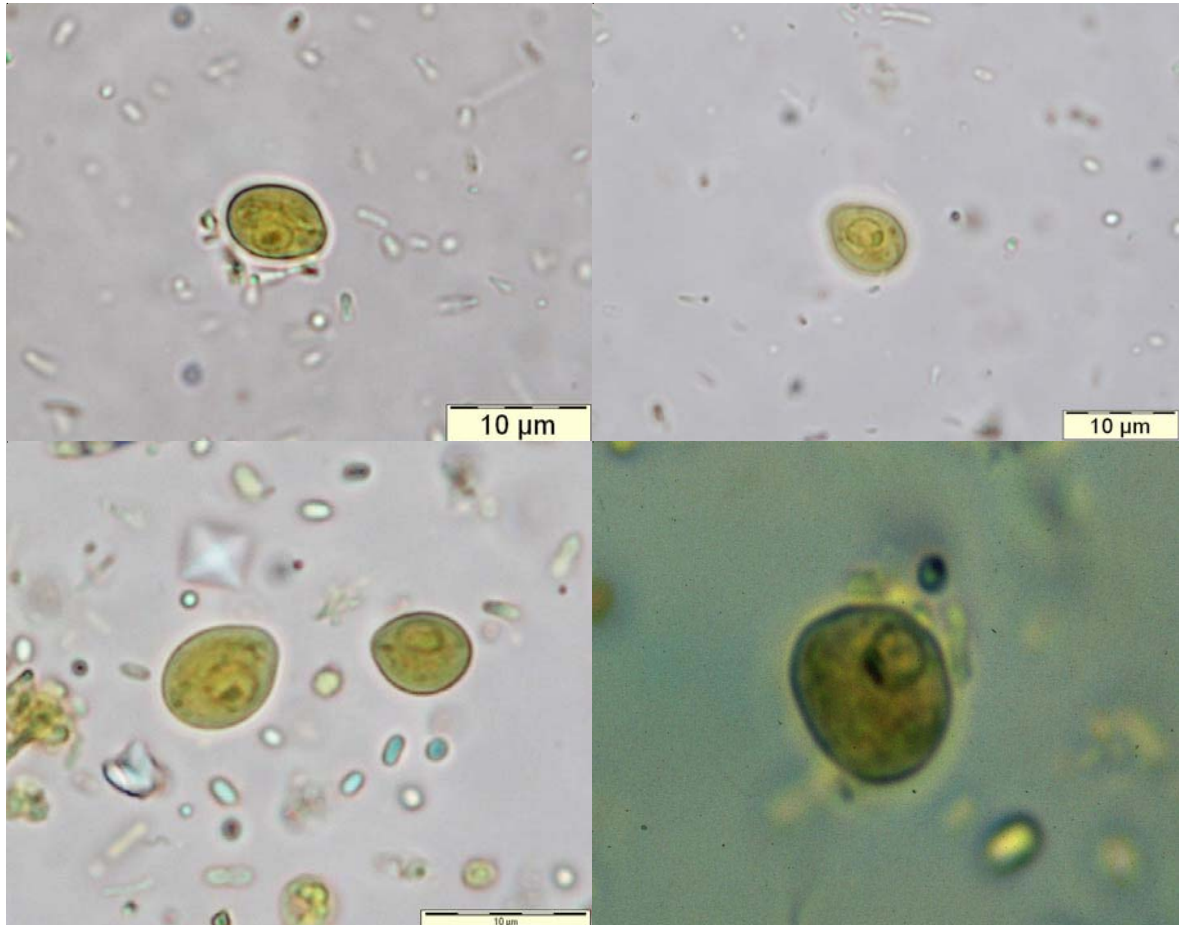
De cysten (6 - 40  $\mu\text{m}$ ) vertonen een vrij variabele grootte. Men onderscheidt verschillende perifeer gelegen kernen en een groot centraal element (*central body*, vacuole) (2). Ze zijn heel licht geel kleurbaar met Lugol. Voor meer gegevens nopens deze controversiële «parasiet» verwijzen we naar de recente review van Boudewijns *et al.*(1). De cysten van de stam uit deze enquête zijn bijzonder robuust want ook na enkele maanden kan men ze moeiteloos terugvinden in dit met formol gefixeerd staal.



Figuur 5.1. *Blastocystis hominis*: links onder gekleurd met de Gramkleuring; de drie andere fotos zijn van het staal P/6242 van deze enquête (gekleurd met Lugol).

*Chilomastix mesnili*

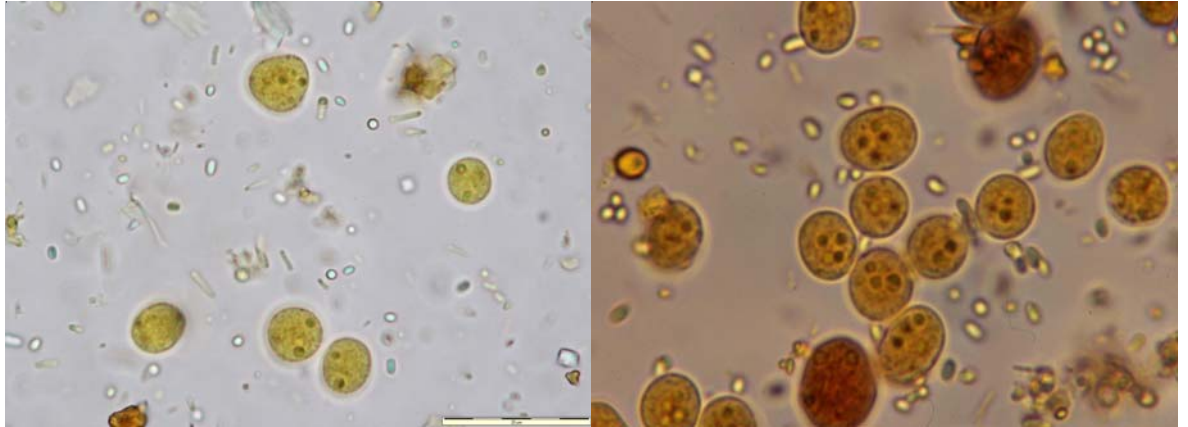
De cysten (6 - 10  $\mu\text{m}$ ) van dit kleine (niet-pathogene) flagellaatje worden af en toe aangetroffen in faeces. Deze cyste is typisch ovaalvormig (maar ook ronde vormen worden waargenomen), bevat één kern met geblokte chromatine (zoals *Endolimax nana*; cf. infra) zonder duidelijk zichtbare structuur (in tegenstelling met *Entamoeba* spp.; zie infra) zeker met de eenvoudige Lugolkleuring, en gewoonlijk eveneens een cytostomale gekrulde fibril (*shepherds crook*) (2).



Figuur 5.2. *Chilomastix mesnili*: cysten gekleurd met Lugol. De twee bovenste fotos zijn van deze enquête (P/6242).

### *Endolimax nana*

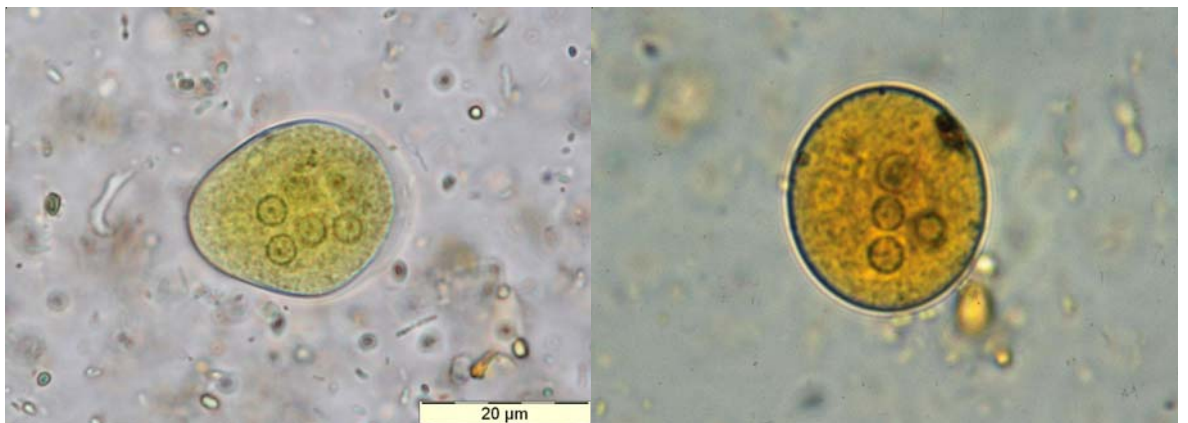
Verse cysten van *E. nana* (6 - 12  $\mu\text{m}$ ) bevatten gewoonlijk vier duidelijke kernen met geblokte chromatine (zonder zichtbare structuur in tegenstelling tot de kern van *Entamoeba* spp.; het centrale karyosoom is massief en de perifere chromatine is nagenoeg afwezig). Het is meestal niet mogelijk om deze vier kernen simultaan te zien aangezien micrometreren hiervoor noodzakelijk is. Bij verouderen gaat deze kernstructuur verloren, zeker wanneer het fixatief geen kwikzouten bevat (2), zodat de herkenning moeilijker wordt.



Figuur 5.3. *Endolimax nana*: cysten gekleurd met Lugol. De chromatine van de kern is geblokt.

### *Entamoeba coli*

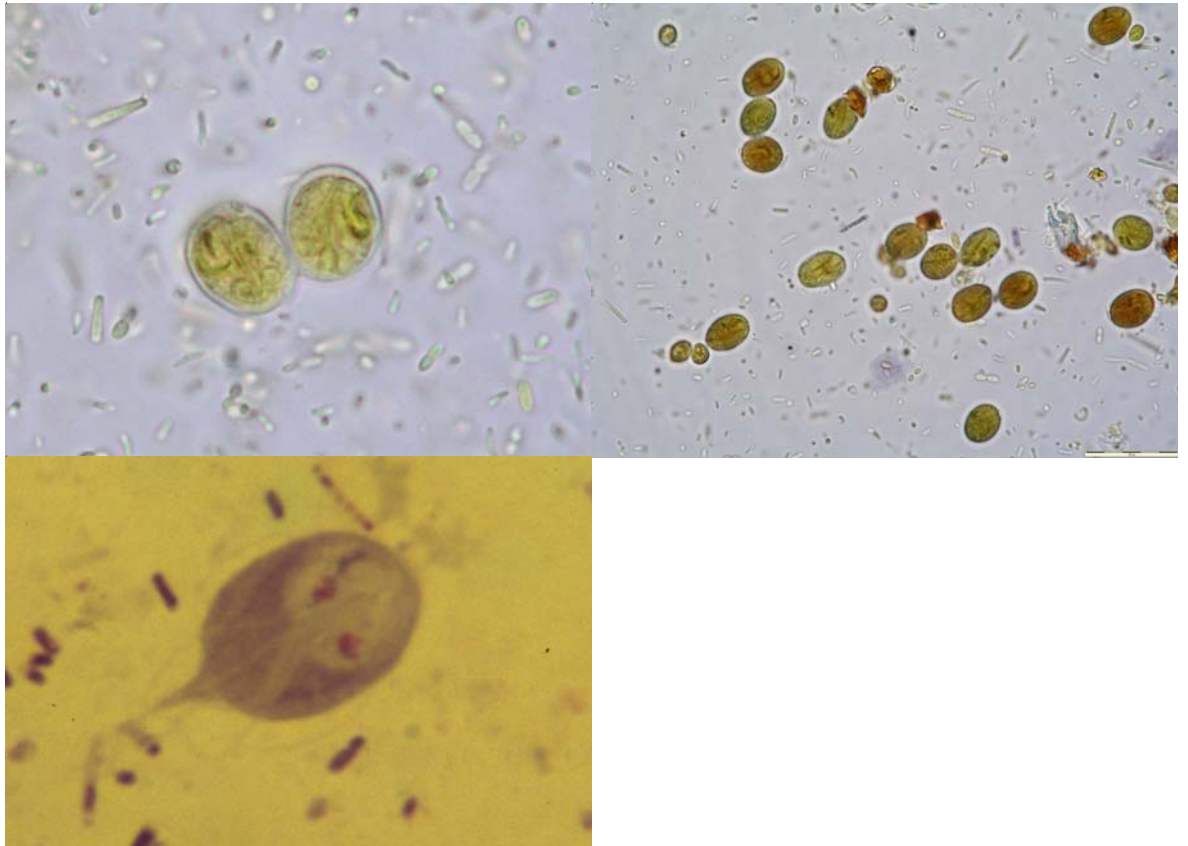
Deze vrij grote cyste (15 - 50  $\mu\text{m}$ ), duidelijk groter dan deze van *Entamoeba histolytica* (10 - 20  $\mu\text{m}$ ) vertoont doorgaans een scherp afgelijnde celwand. Het cytoplasma heeft een «sponsachtig» uitzicht (ruwer dan dit van *E. histolytica*). Er zijn één tot (gewoonlijk) acht kernen aanwezig. Deze kern vertoont het typische uitzicht van *Entamoeba* sp. namelijk perifere chromatine met een (min of meer centraal gelegen) chromatinestipje. Bij *E. coli* is de chromatine stip dikwijls excentrisch gelegen. In zeldzame gevallen ziet men naaldvormige chromatinestaven.



Figuur 5.4. *Entamoeba coli*: cysten gekleurd met Lugol. Het karyosoom en de perifere chromatine van de kernen zijn duidelijk zichtbaar.

*Giardia lamblia*

De cysten (7 - 10  $\mu\text{m}$ ) zijn ovaalvormig en bevatten vier kernen en opgeplooide flagellen. De details van de inwendige structuur zijn moeilijk zichtbaar met een Lugolkleuring.



Figuur 5.5. *Giardia lamblia*: links onder een trofozoïet gekleurd met May-Grunwald Giemsa. De cysten zijn gekleurd met Lugol.

*Hymenolepis nana*

Het ronde tot ovale ei met een dunne, kleurloze schaal van *H. nana* (30 - 47  $\mu\text{m}$ ) heeft een typisch uitzicht. De hexacante larve heeft drie paar duidelijke haakjes. Het embryofoor vertoont twee poolknopjes van waaruit enkele draadjes voortkomen.



Figuur 5.6. *Hymenolepis nana*: links in het staal van deze enquête (P/6243). Beiden gekleurd met Lugol.

M. Lontie, MCH, Leuven en K. Vernelen, WIV, Brussel

## REFERENTIES

1. Boudewijns M., Verhaegen J., Lontie M., Colaert J. 2005 *Blastocystis hominis*: een controversiële darmparasiet. Tijdschr. voor Geneeskunde. 61:1456-1461.
2. Garcia L.S. 1999. Diagnostic Parasitology. American Society for Microbiology, Washington D.C.
3. Hill D.R. 2005. *Giardia lamblia*. In Mandell G. et al. (eds.). Principles and practice of infectious diseases. Elsevier (Churchill Livingstone), Philadelphia: 3198-3205.
4. Schmidt G.D. & Roberts L.S. 1977. Foundations of parasitology. p. 109. The C.V. Mosby Company, Saint Louis.
5. <http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/Default.htm>

## VI. SEROLOGIE

### 6.1 Beschrijving van de monsters

Er werden 3 stalen rondgestuurd.

Er was 1 gelyofiliseerd plasmamonster, S/6365 waarop zowel antistoffen tegen CMV als tegen EBV bepaald dienden te worden.

Het staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

«Een vrouw op vruchtbare leeftijd raadpleegt haar arts voor een griepaal syndroom met koorts, spierpijnen en algemeen gevoel van onwelzijn. Het staal werd afgenomen één maand na de start van de klinische symptomen.»

De verwachte resultaten en interpretaties waren:

EBV:	IgG: positief
	IgM: negatief, kruisreactie met CMV mogelijk
	Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie
CMV:	IgG: positief
	IgM: positief
	Aviditeit: laag
	Serologie suggestief voor een CMV primo-infectie

Dit staal werd (als staalnummer S/3942) reeds verstuurd in de enquête 2003/1.

Er waren 2 «klaar-voor-gebruik» stalen voor de bepaling van HIV-antistoffen.

Staal S/2608 was positief.

Staal S/6333 was negatief.

## 6.2 EBV

### 6.2.1. De deelnemers

169 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 376 testen uit.

4 laboratoria voerden 1 test uit, 133 laboratoria voerden 2 testen uit, 23 laboratoria 3 testen, 8 laboratoria 4 testen en 1 laboratorium 5 testen.

- 8 laboratoria bepaalden de heterofiele antistoffen
- 163 laboratoria voerden minstens één bepaling van IgG uit; 135 labo's voerden één bepaling uit, 24 laboratoria voerden 2 bepalingen uit en 4 laboratoria voerden 3 bepalingen uit; in totaal werden er dus 195 IgG bepalingen uitgevoerd; per type test geeft dit
  - 2 laboratoria voerden 1 bepaling van EA IgG uit
  - 44 laboratoria voerden 1 bepaling van EBNA IgG uit
  - 146 laboratoria voerden minstens één bepaling van VCA IgG uit: 143 voerden 1 bepaling uit en 3 voerden er 2 uit; in totaal 149 bepalingen van VCA IgG
- 167 laboratoria voerden minstens één bepaling van IgM uit; 162 labo's voerden één bepaling uit, 5 laboratoria voerden 2 bepalingen uit; in totaal werden er dus 172 IgM bepalingen uitgevoerd; per type test geeft dit
  - 2 laboratoria voerden 1 bepaling van EA IgM uit
  - 1 laboratorium voerde 1 bepaling van EBNA IgM uit
  - 165 laboratoria voerden minstens één bepaling van VCA IgM uit: 161 voerden 1 bepaling uit en 4 voerden er 2 uit; in totaal 169 bepalingen van VCA IgM
- 1 laboratorium bepaalde de aviditeit

Tabel 6.2.1. Aantal deelnemers per parameter.

Parameter	Aantal labo's
Alleen heterofiele AS	2
Alleen VCA IgM	2
VCA IgG + VCA IgM	116
EBNA IgG + VCA IgM	14
EBNA IgG + EA IgM	2
Heterofiele AS + VCA IgM	1
VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	19
VCA IgG + VCA IgM + heterofiele AS	2
EBNA IgG + VCA IgM + aviditeit	1
VCA IgG + 2 VCA IgM	1
VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	2
VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + heterofiele AS	2
VCA IgG + 2 VCA IgM + EBNA IgG	2
VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EBNA IgM	1
2 VCA IgG + 2 VCA IgM	1
2 VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + heterofiele AS	1



## 6.2.2. Gebruikte reagentia

### 6.2.2.1 Heterofiele antistoffen

Tabel 6.2.2. Reagentia gebruikt ter bepaling van de heterofiele AS.

Fabrikant	Kit	S/6365
Meridian	Monospot Latex	1
Oxoid	Clearview IM	2
	Infectious Mononucleosis	
	Test	2
	Niet gepreciseerd	1
Niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd	2
Totaal		8

### 6.2.2.2 IgG

Tabel 6.2.3. Reagentia gebruikt ter bepaling van de VCA EBV IgG

Fabrikant	Kit	S/6365
Alphadia	EBV IgG Elisa	1
Biognost	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgG IFA	2
	Niet gepreciseerd	1
bioMérieux	Vironostika EBV-VCA IgG	2
Biorad	Platelia EBV-VCA IgG	1
Biotest	Anti-EBV VCA IgG Elisa	3
BMD	Immuno Dot Mono-G	10
	Elisa EBV VCA IgG	3
Dade Behring	Enzygnost anti EBV IgG	26
DiaSorin	Liaison VCA IgG	33
	ETI-VCA-G	4
Euroimmun	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgG Elisa	18
Focus	EBV VCA IgG IFA	4
Genbio (BMD)	EBV VCA IgG-EIA	1
	IFA EBV-VCA IgG	1
Immunoconcepts	EBV VCA IgG	2
Meridian	Merifluor EBV VCA IgG	20
	Premier EBV VCA IgG	7
Novatec (DiaSorin)	Epstein Barr Virus (VCA) IgG ELISA	2
Virion/Serion	Epstein-Barr virus/VCA1 IgG Elisa	3
	Elisa classic Epstein Barr virus VCA IgG	1
Niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd	4
Totaal		149

Tabel 6.2.4. Reagentia gebruikt ter bepaling van de EBNA EBV IgG

Fabrikant	Kit	S/6365
Biotest	Anti-EBV EBNA IgG Elisa	9
	Niet gepreciseerd	1
BMD	Immuno Dot Mono-G	4
	Elisa EBV EBNA IgG	1
DiaSorin	Liaison EBNA IgG	14
Euroimmun	Epstein Barr virus nuclear antigen (EBNA-1) IgG Elisa	9
	Premier EBNA IgG	1
Meridian	recomLine EBV IgG	1
Novatec (DiaSorin)	Epstein Barr Virus (EBNA) IgG ELISA	1
	CAPTIA Epstein Barr Virus (EBNA-1) IgG	1
Niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd	2
Totaal		44

De bepalingen van de EA IgG gebeurden met de Liaison EA IgG kit van Diasorin en de EBV-EA IgG Elisa kit van Euroimmun.

### 6.2.2.3 IgM

Tabel 6.2.5. Reagentia gebruikt ter bepaling van de EBV VCA IgM

Fabrikant	Kit	S/6365
Alphadia	EBV IgM Elisa	1
Biognost	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgM IFA	2
	Niet gepreciseerd	1
bioMérieux	Vironostika EBV-VCA IgM	2
Biorad	Platelia EBV-VCA IgM	1
Biotest	Anti-EBV VCA IgM Elisa	6
	Niet gepreciseerd	1
BMD	Immuno Dot Mono-M	9
	Elisa EBV VCA IgM	3
Dade Behring	Enzygnost anti EBV IgM	26
	Enzygnost anti EBV IgM II	1
DiaSorin	Liaison EBV IgM	33
	ETI-EBV-M reverse	3
Euroimmun	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgM Elisa	22
Focus	EBV VCA IgM RIFA	6
	Epstein-Barr Virus VCA IgM	1
Genbio (BMD)	EBV VCA IgM-EIA	1
	IFA EBV-VCA IgM	1
Immunoconcepts	EBV VCA IgM	1
	EBV-VCA IgM IFA	1
Meridian	Merifluor EBV VCA IgM	23
	Premier EBV VCA IgM	11
Mikrogen	recomLine EBV IgM	1
Novatec (DiaSorin)	Epstein Barr Virus (VCA) IgM ELISA	3
Trinity	CAPTIA Epstein Barr Virus VCA IgM	1
Virion/Serion	Epstein-Barr virus/VCA1 IgM Elisa	3
	Elisa classic Epstein Barr virus VCA IgM	1
Niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd	4
<b>Totaal</b>		<b>169</b>

De bepalingen van de EA IgM gebeurden met de anti EBV EA IgM Elisa van Biotest en de EBV-EA IgM Elisa van Euroimmun; de kit waarmee de EBNA IgM bepaald werd, werd niet gespecificeerd.

### 6.2.2.3 Aviditeit

De bepaling van de aviditeit gebeurde met de recomLine EBV IgG avidity kit van Mikrogen.

## 6.2.3. Resultaten

### 6.2.3.1 Heterofiele antistoffen

Alle laboratoria die heterofiele antistoffen bepaalden, bevonden deze negatief.

### 6.2.3.2 IgG

#### a. VCA IgG

Alle laboratoria die de VCA IgG bepaalden, bevonden deze positief. Laboratoria die twee methoden gebruikten, bekwamen met beide methoden een positief resultaat.

Voor de kits met meer dan 10 gebruikers hebben wij mediaan, minimum en maximum berekend, voor zover de laboratoria een kwantitatief resultaat geantwoord hebben en in dezelfde eenheden gerapporteerd hebben (voor sommige kits werden de kwantitatieve resultaten in verschillende eenheden geantwoord zodat een statistische verwerking onmogelijk is). Deze resultaten worden weergegeven in tabel 6.2.6.

Tabel 6.2.6. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor EBV VCA IgG voor staal S/6365 voor bepaalde van de meest gebruikte kits; de resultaten worden uitgedrukt in U/ml; elke methode heeft echter zijn eenheid, welke onderling niet te vergelijken zijn.

Kit	Aantal	Mediaan	Minimum	Maximum
Enzygnost anti EBV IgG (U/ml)	25	378	280	519
Liaison VCA IgG (U/ml) <sup>1</sup>	31	220	169	262

<sup>1</sup> Er dient nog vermeld dat 1 laboratorium een waarde van 97 U/ml vermeldde en een ander 1370 AU/ml vermeldde.

## b. EBNA IgG

Alle laboratoria die de EBNA IgG bepaalden, bevonden deze positief.

Voor de kit met meer dan 10 gebruikers hebben wij mediaan, minimum en maximum berekend. Dit wordt weergegeven in tabel 6.2.7.

Tabel 6.2.7. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor EBV EBNA IgG voor staal S/6365 voor de meest gebruikte kit; de resultaten worden uitgedrukt in U/ml.

Kit	Aantal	Mediaan	Minimum	Maximum
Liaison EBNA IgG (U/ml)	14	339	267	965

## c. EA IgG

Het ene laboratorium dat de EA IgG bepaalde, bekwam een positief resultaat; het andere een negatief.

### 6.2.3.3 IgM

#### a. VCA IgM

Een overzicht van de resultaten per laboratorium worden weergegeven in tabel 6.2.8. De gevallen waarbij 2 resultaten vermeld worden, betreft laboratoria die 2 technieken gebruikt hebben.

Tabel 6.2.8. Resultaten van de VCA IgM voor staal S/6365.

Resultaat	Aantal labos
Negatief	77
Positief	72
Borderline	10
Geen antwoord	2
Positief/negatief	2
Positief/positief	1
Negatief/negatief	1
Totaal	165

Voor de kits met meer dan 10 gebruikers hebben wij mediaan, minimum en maximum berekend, voor zover de laboratoria een kwantitatief resultaat geantwoord hebben en in dezelfde eenheden gerapporteerd hebben (voor sommige kits werden de kwantitatieve resultaten in verschillende eenheden geantwoord zodat een statistische verwerking onmogelijk is). Deze resultaten worden weergegeven in tabel 6.2.9. In deze tabel vermelden wij ook het kwalitatieve resultaat.

Tabel 6.2.9. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor EBV VCA IgM voor staal S/6365 voor bepaalde van de meest gebruikte kits.

Kit	Kwalitatief resultaat	Aantal	Mediaan	Minimum	Maximum
Enzygnost anti EBV IgM (index)	Positief	17	0.27	0.151	2.836
	Borderline	4	0.171	0.13	0.299
	Negatief	3	0.178	0.15	0.185
Liaison EBV IgM (U/ml) <sup>1</sup>	Positief	29	115	74.6	158
Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgM Elisa (Euroimmun) (index) <sup>2</sup>	Negatief	18	0.55	0.224	0.874
Premier EBV VCA IgM (index)	Negatief	9	0.2	0.053	0.414

<sup>1</sup> Er dient nog vermeld dat 2 laboratoria een waarde van > 160 U/ml (en de interpretatie positief) vermeldden en een ander 965 AU/ml vermeldde (doch geen kwalitatieve beoordeling gaf).

<sup>2</sup> Er dient nog vermeld dat 1 laboratorium een index van 1.1 vermeldde (met de kwalitatieve beoordeling: borderline)

#### b. EBNA IgM

Het laboratorium dat de EBNA IgM bepaalde bewam een positief resultaat.

#### c. EA IgM

Het ene laboratorium dat de EA IgM bepaalde, bewam een positief resultaat; het andere een negatief.

#### 6.2.3.4 Aviditeit

Het laboratorium dat de aviditeit bepaalde, bewam een verhoogde waarde.

### 6.2.3.5 Interpretatie

De interpretatie wordt weergegeven in onderstaande tabel 6.2.10.

Tabel 6.2.10. Interpretatie voor EBV voor staal S/6365

Interpretatie	Aantal laboratoria
Vroeger doorgemaakte infectie	91
Positieve IgM test maar bijkomende testen vereist	48
Primo-infectie	14
Seronegatief	2
Polyclonale stimulatie door/kruisreactie met/ reactivatie door CMV <sup>1</sup>	9
Geen EBV primo-infectie	1
Einde van de primo-infectie (overgangsfase)	1
Recente infectie, kan echter tot 3 maanden geleden zijn gezien de EBNA-titer	1
Laattijdige staalname ten opzichte van de symptomen; verschijnen van EBNA maar kan ouder zijn	1
Geen interpretatie	1
Totaal	169

<sup>1</sup> We vermeldden alle laboratoria die verwijzen naar de CMV-infectie hier samen.

Opvallend is dat de interpretatie «negatieve serologie» gegeven wordt door laboratoria die slechts 1 test verricht hebben (hetzij IgM, hetzij heterofiele AS) en deze negatief bevonden. Eén laboratorium dat zowel de heterofiele AS als de VCA IgM negatief vond, gaf geen interpretatie.

Sommige laboratoria raadden de bepaling van meerdere bijkomende testen aan. Een overzicht van de aangeraden bijkomende testen is te vinden in onderstaande tabel 6.2.11.

Tabel 6.2.11. Bijkomende testen aangeraden voor EBV voor staal S/6365

Bijkomende test	Aantal
Nieuwe afname	11
Nieuwe afname + aviditeit	8
Nieuwe afname + aviditeit + EBNA	1
Nieuwe afname + aviditeit + EA	1
Nieuwe afname + aviditeit + hematologie + transaminasen + heterofiele AS	2
Nieuwe afname + aviditeit + hematologie + CMV-serologie	1
Nieuwe afname + aviditeit + EBNA + heterofiele AS + PCR + herevaluatie vroegere stalen	1
Nieuwe afname + EBNA	3
Nieuwe afname + EA	1
Nieuwe afname + heterofiele AS + hematologie + transaminasen	1
Nieuwe afname + hematologie + transaminasen + CMV-serologie	1
Nieuwe afname + EBNA + hematologie + transaminasen + CMV-serologie	1
Aviditeit	2
Aviditeit + CMV-serologie	1
Aviditeit + EBNA + hematologie + transaminasen	1
EBNA	7
EBNA + EA + heterofiele AS	1
EBNA + EA + heterofiele AS + hematologie + confirmatie IgM	1
Confirmatie IgM	2
Confirmatie IgM + CMV-serologie	1
Uitsluiten van een reactivatie (virale lading) of van een infectie ouder dan 3-6 md. (EBNA+)	1
<b>Totaal</b>	<b>49</b>



Het aantal weken dat aangeraden wordt te wachten vooraleer een nieuwe afname te verrichten wordt weergegeven in volgende tabel 6.2.12.

Tabel 6.2.12. Aangeraden aantal weken interval voor een nieuwe staalname voor EBV voor staal S/6365

Aantal weken	Aantal laboratoria
2	8
2 - 3	5
3	14
3 - 4	4
4	1
Totaal	32

#### 6.2.4. Vergelijking met de resultaten van 2003/1

In 2003 bekwamen de laboratoria volgende resultaten:

- Totale antistoffen: 100% positief
- IgM
  - o 32% positief
  - o 17% borderline
  - o 51% negatief
- IgG:
  - o 97.5% positief
  - o 0.5% borderline
  - o 2% negatief
- Interpretatie
  - o 52.6% Vroegere infectie
  - o 31.6% positieve IgM test maar bijkomende testen vereist
  - o 7.9% primo-infectie
  - o 1.1% seronegatief
  - o 6.8% andere

## 6.3 CMV

### 6.3.1. De deelnemers

190 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 476 testen uit.

2 laboratoria voerden 1 test uit, 102 laboratoria voerden 2 testen uit, 75 laboratoria 3 testen, 10 laboratoria 4 testen en 1 laboratorium 5 testen.

- 1 laboratorium bepaalde de totale antistoffen
- 190 laboratoria voerden minstens één bepaling van IgG uit; 189 labos voerden één bepaling uit, 1 laboratorium voerde 2 bepalingen uit; in totaal werden er dus 191 IgG bepalingen uitgevoerd
- 187 laboratoria voerden minstens één bepaling van IgM uit; 172 labos voerden één bepaling uit, 15 laboratoria voerden 2 bepalingen uit; in totaal werden er dus 202 IgM bepalingen uitgevoerd
- 82 laboratoria bepaalden de aviditeit

Tabel 6.3.1. Aantal deelnemers verdeeld per parameter

Parameter	Aantal labos
Alleen IgG	2
Totaal + IgG	1
IgG + IgM	101
IgG + IgM + IgG aviditeit	71
IgG + 2 IgM	4
IgG + 2 IgM + IgG aviditeit	10
2 IgG + 2 IgM + IgG aviditeit	1

### 6.3.2. Gebruikte reagentia

#### 6.3.2.1 Reagentia gebruikt voor de bepaling van totale antistoffen tegen CMV.

De bepaling van de totale antistoffen gebeurde met de Enzywell CMV Screen kit van Diesse.

#### 6.3.2.2 Reagentia gebruikt voor de bepaling van CMV IgG.

Tabel 6.3.2. Reagentia gebruikt voor de bepaling van CMV IgG

Fabrikant	Kit	S/6365
Abbott	AxSYM CMV IgG	72
bioMérieux	VIDAS CMV IgG	69
Dade Behring	Enzygnost anti CMV IgG	8
Diamedix	CMV IgG	1
Diasorin	Liaison CMV IgG	30
	ETI-CYTOK-G Plus	4
DPC	Immulite CMV IgG	3
Euroimmun	CMV IgG	1
Mikrogen	recomBlot CMV IgG	1
Virion/Serion	ESR 109 G	1
Niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd	1
Totaal		191

#### 6.3.2.3 Reagentia gebruikt voor de bepaling van CMV IgM.

Tabel 6.3.3. Reagentia gebruikt voor de bepaling van CMV IgM

Fabrikant	Kit	S/6365
Abbott	AxSYM CMV IgM	52
bioMérieux	VIDAS CMV IgM	95
Dade Behring	Enzygnost anti CMV IgM	10
Diamed	CMV IgM	2
Diamedix	CMV IgM	1
Diasorin	Liaison CMV IgM	31
	ETI-CYTOK-M reverse Plus	6
Euroimmun	CMV IgM	2
Meridian	Merifluor CMV IgM	1
Mikrogen	recomBlot CMV IgM	1
Virion/Serion	ESR 109 M	1
Totaal		202

#### 6.3.2.4 Reagentia gebruikt voor de bepaling van CMV IgG aviditeit.

Tabel 6.3.4. Reagentia gebruikt voor de bepaling van CMV IgG aviditeit

Fabrikant	Kit	S/6365
bioMérieux	VIDAS CMV IgG avidity	63
Diasorin	Liaison CMV IgG avidity	14
In house	In house	1
Mikrogen	recomBlot CMV IgG avidity	1
Niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd	3
Totaal		82

### 6.3.3. Resultaten

#### 6.3.3.1 Bepaling van totale antistoffen

Het laboratorium dat de totale antistoffen bepaalde vond deze positief.

#### 6.3.3.2 Bepaling van de IgG

190 resultaten waren positief; slechts 1 resultaat was negatief. Het laboratorium dat IgG met 2 methoden bepaalde, bekam voor beide methoden een positief resultaat.

Voor de kits met meer dan 10 gebruikers hebben wij mediaan, minimum en maximum berekend, voor zover de laboratoria een kwantitatief resultaat geantwoord hebben. Deze worden weergegeven in tabel 6.3.5.

Tabel 6.3.5. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor CMV IgG voor staal S/6365 voor de meest gebruikte kits; de resultaten worden uitgedrukt in AU/ml («A» staat voor arbitrair) of IU/ml; elke methode heeft echter zijn eigen «arbitraire» of «internationale» eenheid, welke onderling niet te vergelijken zijn.

Kit	N labos	Mediaan	Minimum	Maximum
AxSYM CMV IgG (AU/ml) <sup>1</sup>	71	61,6	35,5	110,5
VIDAS CMV IgG (AU/ml)	68	16	13	23
Liaison CMV IgG (IU/ml) <sup>2</sup>	28	3,9	3	5,4

<sup>1</sup> Enkel de laboratoria die een positief resultaat antwoordden, werden in rekening gebracht; het laboratorium dat negatief antwoordde, vermeldde een numeriek resultaat van 14.1 AU/ml.

<sup>2</sup> Er dient nog vermeld dat 1 laboratorium aan waarde van 10.7 U/ml vermeldde en een ander 57 AU/ml vermeldde.

### 6.3.3.3 Bepaling van de IgM

201 resultaten waren positief; 1 laboratorium vermeldde wel de gebruikte kit voor bepaling van IgM maar gaf geen resultaat weer. Alle laboratoria die IgM met 2 methoden bepaalden, bekwamen voor beide methoden een positief resultaat.

Voor de kits met meer dan 10 gebruikers hebben wij mediaan, minimum en maximum berekend, voor zover de laboratoria een kwantitatief resultaat geantwoord hebben. Deze worden weergegeven in tabel 6.3.6.

Tabel 6.3.6. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor CMV IgM voor staal S/6365 voor de meest gebruikte kits.

Kit	N labos	Mediaan	Minimum	Maximum
AxSYM CMV IgM (index)	50	8,1915	5,008	10,852
VIDAS CMV IgM (index)	87	2,64	2,27	3,21
Liaison CMV IgM (AU/ml)	25	170	146	237

### 6.3.3.4 Aviditeit

Alle laboratoria gaven het antwoord laag voor de aviditeit.

Voor de kits met meer dan 10 gebruikers hebben wij mediaan, minimum en maximum berekend, voor zover de laboratoria een kwantitatief resultaat geantwoord hebben. Deze worden weergegeven in tabel 6.3.7. Voor vereenvoudiging van de berekening werden de resultaten (voor zover dit mogelijk was) naar % omgerekend.

Tabel 6.3.7. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor CMV IgG aviditeit voor staal S/6365 voor de meest gebruikte kits.

Kit	N labos	Mediaan	Minimum	Maximum
VIDAS CMV IgG avidity (%)	59	9,66	5	14
Liaison CMV IgG avidity (%)	10	2,7	1,5	6,2

### 6.3.3.5 Interpretatie

De meeste laboratoria kozen voor de interpretatie «Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie»; een belangrijk aantal andere laboratoria koos voor «Positieve reactie in de IgM assay voor CMV; om een primaire infectie uit te sluiten is een bevestiging nodig». Sommige kozen voor een combinatie van beide of voor een eigen interpretatie. 5 laboratoria gaven geen interpretatie (de meerderheid hiervan waren transfusiecentra, die enkel IgG of totale AS + IgG bepalen, en op grond hiervan uiteraard geen interpretatie kunnen geven). Eén laboratorium antwoordde «Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte CMV infectie».

Een overzicht van de interpretaties wordt in onderstaande tabel 6.3.8. weergegeven:

Tabel 6.3.8. Interpretatie voor CMV voor staal S/6365

Interpretatie	Aantal
Primo-infectie	106
Positieve IgM test maar bijkomende testen vereist	68
Primo-infectie en Positieve IgM test maar bijkomende testen vereist	4
Primo-infectie of Positieve IgM test maar bijkomende testen vereist	3
Primo-infectie of reactivatie	1
De aanwezigheid van IgG en IgM en een lage aviditeit pleiten voor een infectie < 3 md.	2
Vroeger doorgemaakte CMV infectie	1
Geen interpretatie	5
<b>Totaal</b>	<b>190</b>

Sommige laboratoria raadden de bepaling van meerdere bijkomende testen aan. Een overzicht van de aangeraden bijkomende testen is te vinden in volgende tabel 6.3.9.

Tabel 6.3.9. Bijkomende testen aangeraden voor CMV voor staal S/6365

Aangeraden bepaling	Aantal
Aviditeit	7
Aviditeit + nieuwe afname	23
Aviditeit + hematologie	1
Aviditeit + zwangerschapstest	1
Aviditeit + nieuwe afname + zwangerschapstest	2
Aviditeit + nieuwe afname + PCR	1
Aviditeit + nieuwe afname + IgM confirmatie	1
Aviditeit + nieuwe afname + PCR + herevaluatie vroegere stalen	1
Aviditeit + nieuwe afname + zwangerschapstest + CMV-kultuur	1
Aviditeit + nieuwe afname + hematologie + levertesten + EBV-serologie	1
Nieuwe afname	27
Nieuwe afname + IgM confirmatie	2
Nieuwe afname + CMV-kultuur	1
Nieuwe afname + PCR	1
Nieuwe afname + hematologie + levertesten + EBV-serologie	1
CMV-kultuur	1
PCR	1
IgM confirmatie	1
Niet gespecificeerd	1
<b>Totaal</b>	<b>75</b>

Het aantal weken dat aangeraden wordt te wachten vooraleer een nieuwe afname te verrichten wordt weergegeven in onderstaande tabel 6.3.10.

Tabel 6.3.10. Aangeraden aantal weken interval voor een nieuwe staalname voor CMV voor staal S/6365

Aantal weken	Aantal laboratoria
1	1
1 - 2	1
2	17
2 - 3	9
3	27
3 - 4	4
4	3
<b>Totaal</b>	<b>62</b>

Twaalf laboratoria raadden ondanks de interpretatie van een primo-infectie toch aan van bijkomende testen uit te voeren; tien onder hen zouden deze altijd aanraden, twee enkel in geval van zwangerschap.

Een overzicht hiervan wordt in volgende tabel 6.3.11. gegeven.

Tabel 6.3.11. Bijkomende testen aangeraden voor CMV voor staal S/6365 door de laboratoria die de interpretatie primo-infectie gaven.

Aangeraden bepaling	Aantal
Nieuwe afname	7
Aviditeit	2
Nieuwe afname + aviditeit	2
Niet gespecificeerd	1
<b>Totaal</b>	<b>12</b>

#### 6.3.3.6 Vergelijking met de resultaten van 2003/1

In 2003 bekwamen de laboratoria volgende resultaten:

- Totale antistoffen: 100% positief
- IgM: 100% positief
- IgG:
  - o 98% positief
  - o 1% borderline
  - o 1% negatief
- Interpretatie
  - o 63.4% primo-infectie
  - o 36.6% positieve IgM test maar bijkomende testen vereist
  - o 1.5% andere
  - o 0.5% geen interpretatie

## 6.4 Bespreking kwaliteitscontrole serologie: CMV en EBV antistoffen

### 6.4.1. Inleiding

Het Cytomegalovirus en het Epstein Barr virus maken deel uit van de groep van de herpesvirussen. Bij bepaalde klinische syndromen (koorts, klieren, leverstoornissen, mononucleosis like syndroom) worden beide serologieën vaak tegelijkertijd aangevraagd. Door het feit dat herpesvirussen vaak kruisreactiviteit vertonen in de IgM assay's, kan de interpretatie van de serologische profielen moeilijk zijn.

### 6.4.2. Onderzochte stalen

De klinische informatie specificceert dat het ging om een patiënt met een griepaal syndroom. Men vraagt de bepaling van serologie tegen EBV en CMV antistoffen en een interpretatie van de resultaten: voor beide parameters kan worden gekozen uit de volgende opties:

- 1) is de serologie suggestief voor een primaire CMV (resp. EBV) infectie;
- 2) is de serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte CMV (resp. EBV) infectie;
- 3) de serologie is negatief voor CMV (resp. EBV).

Het serumstaal was afkomstig van een patiënt met een primoinfectie met CMV. Uit de antecedenten van de patiënt kon worden weerhouden dat ze enkele jaren voordien een serologie voor EBV had laten verrichten die positief was voor IgG en negatief voor IgM.

Het staal dat werd opgestuurd bevatte positieve IgG en IgM antistoffen voor CMV; en positieve IgG antistoffen voor EBV.

### 6.4.3. Bespreking CMV serologie

Slechts een labo had een probleem met de IgG bepaling. Alle laboratoria die IgM bepalingen uitvoerden vonden een positief resultaat. De 82 labo's die IgG aviditeit uitvoerden vonden allemaal een lage aviditeit.

#### Juiste antwoorden voor CMV serologie

Het staaltje dat werd opgestuurd, vertoonde IgG positiviteit, een hoge waarde voor IgM en vertoonde een zeer lage aviditeit. Dit is heel suggestief voor een primaire infectie. Echter, daar er slechts één staaltje werd opgestuurd, en er dus geen seroconversie in IgG kon aangetoond worden, kan de diagnose van primaire infectie niet met zekerheid worden gesteld en worden de volgende antwoorden goedgekeurd

Serologie suggestief voor een primaire infectie met CMV (106 labo's)

Positieve reactie in IgM assay; om een primaire infectie uit te sluiten is een bevestiging nodig. (68 labo's)

Primoinfectie of reactivatie (1 labo)



Het volgende antwoord is niet foutief, maar verdient een kleine toelichting: «De aanwezigheid van IgG en IgM en de lage aviditeit pleiten voor een infectie van < 3 maand.»

Een hoge aviditeit in combinatie met een positieve IgM sluit in principe een primo-infectie in de drie voorgaande maanden uit. Echter, een lage aviditeit in combinatie met IgM wijst niet noodzakelijk op een recente infectie (een lage aviditeit kan gevonden worden maanden tot soms meer dan een jaar na een acute infectie). Echter, wanneer de aviditeit heel laag is (zoals in dit geval), kan wel de diagnose van recente infectie worden weerhouden. Waarden van de aviditeit <20% (indien gemeten met de Vidas) zijn inderdaad suggestief voor een primoinfectie van < 3 maand. Dit antwoord werd gegeven door 2 labo's die de aviditeit bepalen dmv Vidas.

#### Foutieve antwoorden voor CMV serologie

Slechts één echt foutief antwoord kan weerhouden worden nl vroeger doorgemaakte CMV infectie (aanwezigheid van IgM zal steeds de mogelijkheid openlaten van een primaire infectie of een reactivatie.)

5 laboratoria gaven geen interpretatie.

#### Bijkomende testen die werden aangeraden

Tal van bijkomende mogelijke testen werden terecht aangeraden, waaronder aviditeit, hematologische parameters, levertesten, en ook nieuwe afname.

Voor CMV kweek en PCR is echter een opmerking noodzakelijk: deze analyses hebben geen plaats in de diagnostiek van CMV bij immuuncompetente patiënten. Bovendien is er geen mogelijkheid om via kweek of PCR een onderscheid te maken tussen primaire infectie en reactivatie.

Ook een zwangerschapstest is niet nodig om een IgM te bevestigen.

#### **6.4.4.** Bespreking EBV serologie

Het serum was afkomstig van een patiënt met een primaire CMV infectie die vroeger reeds een EBV infectie had doorgemaakt. We verwachtten dus een positieve EBV IgG serologie met afwezigheid van IgM en afwezigheid van heterofiele antistoffen. Gezien bepaalde serologische testen voor EBV-IgM kruisreageren met CMV-IgM kunnen we dus een aantal kruisreacties verwachten.

#### Heterofiele antistoffen

Slechts 8 laboratoria bepaalden de heterofiele antistoffen, geen enkel positief resultaat werd bekomen.

#### IgG antistoffen tegen EBV

IgG antistoffen kunnen worden opgespoord tegen twee majeure antigenen nl tegen het VCA (Viral capsular antigen) en tegen het EBNA (Epstein Barr Nuclear Antigen).

De VCA-IgG verschijnen snel na de infectie en ze blijven levenslang positief. De VCA IgG kan samen met de VCA IgM aanwezig zijn in een acute infectie. De EBNA-IgG antistoffen verschijnen ten vroegste 2 à 3 maand na een primaire EBV infectie en bereiken een piek na 7 à 8 maand. Ze blijven levenslang positief. Een positieve EBNA IgG serologie sluit een primaire EBV infectie uit.

Opsporen van IgG antistoffen tegen het EA is geen goede techniek om een na te gaan of de patiënt reeds een infectie met het EBV virus heeft doorgemaakt. Immers de EA antilichamen stijgen kort na de infectie maar worden negatief enkele maanden na de acute infectie. Bij reactivaties, en bij EBV geassocieerde neoplasieën (Burkitt lymfoom, nasofaryngeaal carcinoom) kunnen ze opnieuw gedetecteerd worden.

Alle uitgevoerde testen voor IgG antistoffen tegen VCA en EBNA IgG waren positief. Van de 2 labo's die IgG tegen EA hadden getest vond 1 een positieve IgG.

### IgM antistoffen tegen EBV

72 positieve en 10 borderline positieve IgM's werden gevonden. De frequentie van kruisreactiviteit met CMV IgM op dit staal zijn in oplopende volgorde: (enkel die kits met meer dan 10 gebruikers worden vermeld): Meridian premier EBV: 0%; Euroimmun: 5%; Meridian Merifluor: 13%; Dade Behring 85%; Diasorin (Liaison): 97%.

Opmerkelijk is de interpretatie van de gebruikers van Dade Behring: als we de ruwe data bekijken dan zien we dat er geen uniformiteit is in de criteria om een staal positief of negatief te beschouwen: een staal met een waarde van 0.150 wordt door sommigen als negatief beschouwd, en door andere als positief (tabel 6.2.9). Een grondig nazicht van de bijsluiters is zeker noodzakelijk.

In september heeft Dade Behring een nieuwe versie van de EBV IgM in roulatie gebracht, de «Enzygnost anti EBV IgM II». Gezien onze enquête van 3 oktober dateert, mogen we er van uit gaan dat op het moment van de enquête maar een beperkt aantal labo's zal overgeschakeld zijn (wellicht inderdaad eerst enkel de enige die deze kit als «andere» vermeld heeft).

Labo's die een test gebruiken waar de kans op kruisreactiviteit hoog is zouden een confirmatietest moeten gebruiken bij elke positieve IgM test. Een kruisreactie is geen onoverkomelijk probleem in zoverre men een positieve test steeds confirmeert. Confirmatie kan gebeuren door gebruik te maken van een andere, meer specifieke, IgM test, of door een bijkomende serologische parameter te bepalen. De bepaling van EBNA IgG antistoffen in geval van een positief EBV IgM kan hiervoor worden gebruikt. Opgepast echter bij sera waar de VCA-IgM positief is en de IgG-VCA negatief is. Dit serologisch patroon is suggestief voor een heel recente infectie, maar een kruisreactie is niet uitgesloten.

Confirmatie met EBNA IgG is niet mogelijk (zal steeds negatief zijn, gezien de negatieve VCA-IgG) dus moet de confirmatie gebeuren dmv andere IgM technieken, of door middel van een nieuwe staalname om seroconversie in VCA IgG op te sporen.

#### Juiste antwoorden voor EBV serologie

Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte infectie met EBV (91 labo's)

Positieve IgM test maar bijkomende testen vereist (48 labo's)  
Polyclonale stimulatie door/kruisreactie met/reactivatie door CMV (9 labo's)

Geen EBV primo-infectie (1 labo)

#### Foutieve antwoorden voor EBV serologie

Primoinfectie met EBV (14 labo's)

2 van de 14 labo's hadden een confirmatie test voor de IgM uitgevoerd nl de EBNA IgG. Beide labo's vonden een positieve reactie wat dus een primoinfectie met EBV uitsluit. De reden waarom primoinfectie werd geantwoord door deze twee labo's is niet duidelijk.

12 hadden geen confirmatietest uitgevoerd en gaven dus een foutief resultaat door

Seronegatief (2 labo's)

Einde van de primo-infectie (overgangsfase) (1 labo)

Recente infectie, kan echter tot 3 maanden geleden zijn gezien de EBNA-titer (1 labo)

Laattijdige staalname ten opzichte van de symptomen; verschijnen van EBNA maar kan ouder zijn (1 labo)

Anne Naessens, AZ VUB, Brussel

## 6.5 HIV

### 6.5.1. De deelnemers

De enquête werd verstuurd naar 205 deelnemers en 194 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Meerdere laboratoria voerden meer dan één test uit per staal.

Op staal S/2608 voerden 193 laboratoria 228 testen uit: 219 «antistoftesten» (screeningstesten), 6 testen voor Ag p24 en 3 confirmatietesten. Eén laboratorium voerde geen testen uit op dit staal (maar rapporteerde de aanwezigheid van stolsels).

Tabel 6.5.1. Aantal testen per laboratorium uitgevoerd op staal S/2608

Type test	Aantal
1 «antistoftest»	163
2 «antistoftesten»	20
3 «antistoftesten»	2
1 «antistoftest» + 1 Ag p24 test	2
2 «antistoftesten» + 1 Ag p24 test	2
1 «antistoftest» + 1 confirmatietest	1
2 «antistoftesten» + 1 confirmatietest	1
1 «antistoftest» + 1 Ag p24 test + 1 confirmatietest	1
Enkel antigen p24 *	1

\* 1 laboratorium heeft enkel de bepaling van Ag p24 uitgevoerd en geen screeningstest.

Conclusie: 167 laboratoria voerden 1 screeningstest uit, 23 laboratoria 2 en 2 laboratoria 3 screeningstesten.

Op staal S/6333 voerden 194 laboratoria 214 testen uit: 211 «antistoftesten» (screeningstesten), 2 testen voor Ag p24 en 1 confirmatietest.

Tabel 6.5.2. Aantal testen per laboratorium uitgevoerd op staal S/6333

Type test	Aantal
1 «antistoftest»	176
2 «antistoftesten»	13
3 «antistoftesten»	2
1 «antistoftest» + 1 Ag p24 test	1
2 «antistoftesten» + 1 confirmatietest	1
Enkel antigen p24 *	1

\* 1 laboratorium heeft enkel de bepaling van Ag p24 uitgevoerd en geen screeningstest.

Conclusie: 177 laboratoria voerden 1 screeningstest uit, 14 laboratoria 2 en 2 laboratoria 3 screeningstesten.

### 6.5.2. Gebruikte reagentia

Volgende tabel 6.5.3. geeft in aantal weer welke reagentia door de deelnemers gebruikt werden voor de screeningstesten :

Tabel 6.5.3. Reagentia gebruikt voor de screeningstesten voor de bepaling van HIV.

Fabrikant	Reagens	S/2608	S/6333
Abbott	AxSYM HIV Ag/Ab Combo	41	41
	AxSYM HIV-1/2gO	33	33
	Architect HIV Ag/Ab Combo	12	12
	DETERMINE HIV 1/2	4	4
	Murex HIV-1.2.O.	3	3
	IMx HIV-1/HIV-2 III PLUS	3	3
	Murex HIV Ag/Ab	2	2
	PRISM HIV O Plus	1	1
Bayer	Centaur HIV	9	9
	Centaur EHIV	3	3
	Niet gespecificeerd	1	1
Behring	Enzygnost HIV Integral	4	4
	Enzygnost anti-HIV 1/2 PLUS	1	1
bioMérieux	VIDAS HIV DUO ULTRA	30	26
	VIDAS HIV DUO QUICK	18	15
	VIDAS HIV DUO	5	4
	Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab	1	1
	Vironostika HIV Uni-Form II Plus O	1	1
BioRad	Access HIV 1/2 New <sup>1</sup>	23	23
	Genscreen HIV 1/2 Version 2	1	1
Biotest	HIV Tetra Kit	4	4
Ortho Diagnostics	VITROS Immunodiagnostic Products anti HIV 1+2	13	13
	HIV-1/HIV-2 Ab-Capture		
	Elisa test	1	1
Roche	HIV Combi	5	5
Totaal		219	211

<sup>1</sup> De Access HIV 1/2 New kit wordt geproduceerd door de firma BioRad; de bepalingen met deze kit gebeuren op toestellen geproduceerd door de firma Analis; voor beide stalen gebeurden 21 bepalingen op Access en 2 op UniCel.

De bepaling van het Ag p24 gebeurde op beide stalen steeds met de VIDAS HIV p24 II.

Er dient tevens vermeld te worden dat voor staal S/2608 2 laboratoria en voor staal S/6333 1 laboratorium de GENELABS HIV 2.2 BLOT gebruikten en voor staal S/2608 één laboratorium de Inno LIA HIV Confirmation uitvoerde.

### 6.5.3. Resultaten

#### 6.5.3.1 Staal S/2608 : Positief

Resultaten van de screeningstesten:

- 201 positief
- 9 borderline
- 8 negatief
- 1 laboratorium gaf geen resultaat weer omdat het toestel Prism geen resultaat gaf

Tabel 6.5.4. Resultaten voor de laboratoria die 1 screeningstest uitvoerden.

Resultaat	Aantal labo's
Positief	157
Borderline	7
Negatief*	2
NT	1

\* Eén van deze beide laboratoria dat slechts 1 test uitvoerde en een negatief resultaat antwoordde, heeft vermoedelijk beide stalen verwisseld (resultaat van staal S/6333 werd als positief geantwoord).

Tabel 6.5.5. Resultaten voor de laboratoria die 2 screeningstesten uitvoerden.

Resultaten	Aantal labo's
Pos/Pos	19
Borderline/Borderline	1
Pos/Neg	3

Tabel 6.5.6. Resultaten voor de laboratoria die 3 screeningstesten uitvoerden.

Resultaten	Aantal labo's
Pos/Pos/Neg	1
Pos/Neg/Neg	1

Wij stellen vast dat enkele laboratoria een «rapid test» uitgevoerd hebben; we dienen hier te vermelden dat deze testen niet verward mogen worden met de eigenlijke screeningstesten en deze in geen geval kunnen vervangen maar enkel als een snelle bepaling in dringende gevallen gebruikt mogen worden (waarvan het resultaat daarna steeds bevestigd dient te worden door een «normale» screeningstest). Het is dus zeker niet aangewezen deze sneltesten als enige HIV test te gebruiken.

De Ag p24 bepaling was negatief bij vier van de laboratoria die deze test uitvoerden en positief bij de 2 anderen (ondermeer bij het laboratorium dat enkel HIV p24 bepaalde). De GENELABS HIV 2.2 BLOT leverde éénmaal een positief en éénmaal een borderline resultaat op. De Inno LIA HIV Confirmation was positief.

184 laboratoria zouden het staal in routine doorsturen naar een referentielaboratorium en 7 zouden dit niet doen. Nochtans zouden alle laboratoria die een positief of twijfelachtig resultaat bekwamen en die zelf geen referentielaboratorium zijn, het staal voor confirmatie naar een referentiecentrum moeten sturen. Twee van de laboratoria die 2 verschillende resultaten bekwamen (positief en negatief) antwoorden «ja» bij het positieve resultaat en «neen» bij het negatieve resultaat; nochtans, wanneer 2 testen een verschillend resultaat opleveren zou een derde test moeten uitgevoerd worden en een confirmatie gevraagd.

De 7 laboratoria die het staal niet zouden doorsturen, omvatten:

- 1 laboratorium dat de GENELABS HIV 2.2 BLOT uitvoerde
- het laboratorium dat de Inno LIA HIV Confirmation uitvoerde
- 1 laboratorium dat zelf als referentiecentrum fungeert
- 1 laboratorium dat vermeldde in routine op positieve stalen blottesten uit te voeren en Ag p24 te bepalen
- de 2 laboratoria die voor hun enige screeningstest een negatief antwoord ingestuurd hebben
- het laboratorium dat geen resultaat bekwam van zijn toestel

We dienen nog te vermelden dat één laboratorium naast het doorsturen van het staal naar een referentiecentrum eveneens aanraadde om een tweede staal af te nemen (gezien de reactiviteit van het staal als (te) zwak beoordeeld werd).

#### 6.5.3.1. Staal S/6333: negatief

210 van de 211 screeningstesten werden als negatief geantwoord; het enige positieve antwoord is wellicht, zoals reeds hoger beschreven, te wijten aan een staalverwisseling.

De Ag p24 bepaling en de GENELABS HIV 2.2 BLOT waren negatief bij de laboratoria die deze testen uitvoerden.

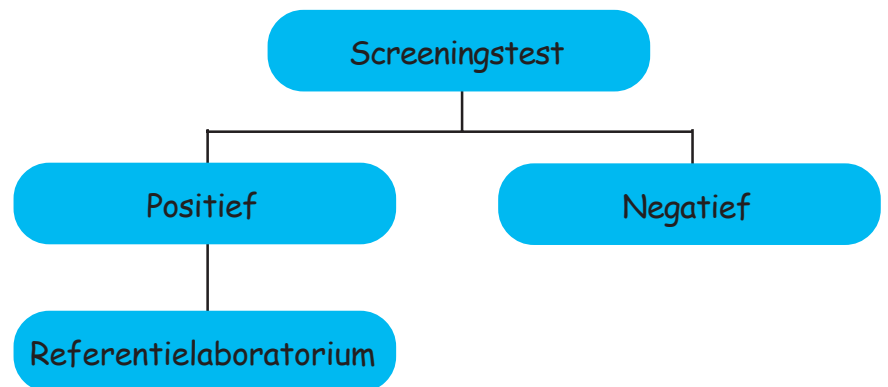
193 laboratoria zouden het staal in routine niet doorsturen naar een referentielaboratorium; enkel het laboratorium dat een positief antwoord inleverde, zou het staal doorsturen.

#### 6.5.3. Commentaar op de resultaten van het onderzoek

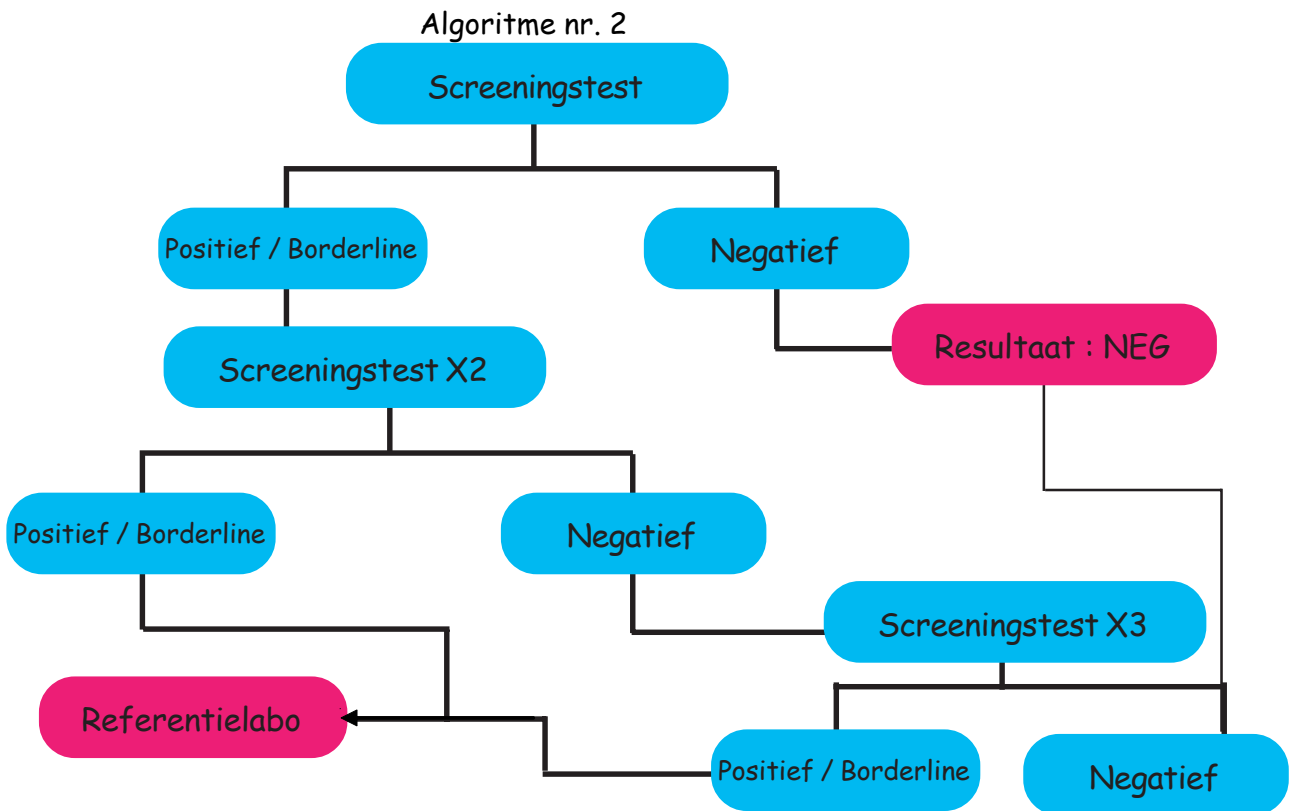
Alle gebruikte testen moeten het onderwerp uitmaken van een validatiedossier binnen het laboratorium dat ze gebruikt. In dit dossier dient het algoritme vermeld te worden dat gebruikt wordt om een beslissing te nemen en dus om het antwoord aan de aanvrager te verstrekken.

Voorbeelden van algoritmes worden op de hierna gegeven.

Algoritme nr. 1







De antigeentest alleen kan niet gebruikt worden als screeningstest.

De antistoftesten worden beschouwd als screeningstesten voor de infectie; het hieraan toevoegen van een antigeentest verhoogt de gevoeligheid door het verkleinen van de windowperiode tussen het moment van de infectie en de positiviteit van een marker.

D. Sondag-Thull, Centre de Transfusion, Liège