

WIV
J. Wytsmanstraat, 14
B-1050 BRUSSEL

FEDERALE OVERHEIDSDIENST, VOLKSGEZONDHEID, VEILIGHEID VAN DE
VOEDSELKETEN EN LEEFMILIEU
COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE

DIENST LABORATORIA VOOR KLINISCHE BIOLOGIE
COMITES VAN DESKUNDIGEN

GLOBAL RAPPORT

EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE VOOR ANALYSEN KLINISCHE BIOLOGIE

MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE/PARASITOLOGIE

ENQUETE 03/2006

Microbiologie

Niet pathogenen (H. parainfluenzae + S. viridans)
Microsporium canis
Enterococcus faecium
Acinetobacter baumannii

Parasitologie

Loa loa
Plasmodium vivax

Serologie

HIV
Mycoplasma

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website :

http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_nl/rapports_annee.htm

COMITE VAN EXPERTEN VOOR MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE

WIV (secretariaat) : 02/642.55.22 - FAX : 02/642.56.45
(Dr. K. Vernelen) : 02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45
(Coördinator) : e-mail : kris.vernelen@iph.fgov.be
Dr. BODEUS Monique : 02/764.67.31 - FAX : 02/764.69.33
: e-mail : bodeus@mblg.ucl.ac.be
Dr. CLAEYS Geert : 09/240.36.45 – FAX : 09/240.36.59
: e-mail : geert.claeys@ugent.be
Dr. CROKAERT Françoise : 02/541.37.00 – FAX : 02/541.32.95
: e-mail : fcrokaer@ulb.ac.be en nathalie.cardinal@bordet.be
Dr. DE BEENHOUWER Hans : 053/72.42.72 – FAX : 053/72.45.88
: e-mail : hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be
Dr. DE GHELDRE Yves : 02/340.41.34 – FAX : 02/340.41.79
: e-mail : yves.degheldre@chirec.be
Dr. DEDISTE Anne : 02/535.45.42
: e-mail : anne_dediste@stpierre-bru.be
Dr. DELFORGE Marie-Luce : 02/555.34.53 – FAX : 02/555.64.59
: e-mail : mdelforg@ulb.ac.be
Dr. HAYETTE Marie-Pierre : 043/66.24.54 – FAX : 043/66.24.40
: e-mail : mphayette@chu.ulg.ac.be
Dr. LAGROU Katrien : 016/34.70.98 – FAX : 016/34.79.31
: e-mail : katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be
Apr. LONTIE Marc : 016/31.01.72 – FAX : 016/31.01.88
: e-mail : marc.lontie@mchlvwo.be
Dr. LUYASU Victor : 010/43.73.30 - FAX : 010/43.71.88
: e-mail : victor.luyasu@skynet.be
Dr. MAGERMAN Koen : 011/30.97.40 – FAX : 011/30.97.50
: e-mail : koen.magerman@virgajesse.be
Dr. NAESSENS Anne : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15
: e-mail : anne.naessens@az.vub.ac.be
Dr. VAN ESBROECK Marjan : 03/247.64.37 – FAX : 03/247.64.40
: e-mail : mvesbroeck@itg.be
Dr. VERHAEGEN Jan : 016/34.70.73 – FAX : 016/34.79.31
: e-mail : jan.verhaegen@uz.kuleuven.ac.be
Dr. WOESTYN Sophie : 056/85.58.85 – FAX : 056/85.58.86
: e-mail : sophie.woestyn@skynet.be

I. ALGEMENE BEMERKINGEN

Voor de 3de evaluatie van het jaar 2006 (enquête 2006/3) werd volgend materiaal verzonden op 2 oktober 2006.

- 1.1. Eén klinisch en 3 gelyofiliseerde monsters voor identificatie.
Voor 2 monsters werden de resultaten van de gevoeligheidstesten gevraagd.
- 1.2. Twee bloeduitstrijkjes voor parasitologisch onderzoek.
- 1.3. Drie plasmamonsters voor de bepaling van Mycoplasma en HIV.

AANTAL DEELNEMERS

Het aantal evalueerbare antwoordbulletins bedroeg :

1.	Voor identificatie en antibiogram	: 191
2.	Voor de parasitologie	: 190
3.	Voor de serologie	
	Mycoplasma	: 163
	HIV	: 186

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

II. IDENTIFICATIES

2.1. Cultuur M/2090 was een *Enterococcus faecium*

Door onvoorziene omstandigheden was de tekst over *Enterococcus faecium* nog niet ter beschikking bij het ter perse gaan van het globaal rapport.

Hij zal opgenomen worden als bijlage aan het globaal rapport 2007/1.

Onze excuses hiervoor.

2.2. Cultuur M/4371 *Acinetobacter baumannii*

Identificatie tot op species niveau is moeilijk en werd uitvoerig beschreven in het rapport van enquête 2000/1. Voor de enquête 2006/3 werd identificatie tot op genus niveau gevraagd. Bijna alle laboratoria gaven een correct antwoord voor de identificatie.

Acinetobacter baumannii is intrinsiek resistent tegen ampicilline, eerste en tweede generatie cefalosporines en temocilline. Cefotaxime en aztreonam hebben een beperkte intrinsieke activiteit. Verworven resistentie tegen ceftazidime en carbapenems is een toenemend probleem.

In Frankrijk was er in 2003-2004 een belangrijke epidemie met een «extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)» producerende *Acinetobacter baumannii*. Een enquête uitgevoerd door het WIV in 2004 toonde aan dat de betreffende VEB-1-producerende stam in België beperkt voorkwam bij patiënten, die in rusthuizen of ziekenhuizen verbleven en dicht bij de Franse grens woonden of veel contacten hadden met Frankrijk. De stam kan fenotypisch worden herkend omdat hij enkel gevoelig is aan meropenem of imipenem en colistine. VEB-1 confirmatie kan gebeuren in het referentielaboratorium (opsporen van ESBL met bodems die oxacilline bevatten, PCR).

PER-1 is een ander ESBL dat wijd verspreid voorkomt bij *Acinetobacter baumannii* in Turkije en ook in andere landen als Frankrijk en Korea werd gerapporteerd. In België komen stammen met dit beta-lactamase sporadisch voor.

Bij *Acinetobacter baumannii* kunnen verschillende resistentiemechanismen tegen meropenem/imipenem voorkomen. De beta-lactamases die de carbapenems hydrolyseren behoren tot de OXA-beta-lactamases. Recent werd een uitbraak beschreven in een Belgisch ziekenhuis. De indexpatiënt had eerst in een Grieks ziekenhuis verbleven. De stam bleek heel gemakkelijk overdraagbaar tussen patiënten ondanks bijkomende hygiëne-maatregelen. Hij was enkel gevoelig aan tigecycline en intermediair gevoelig aan colistine. Door heterogene expressie van de resistentie is detectie van resistentie niet eenvoudig. Bij disk diffusie ziet men doorgroei van kolonies in de inhibitiezone van imipenem, meropenem en aztreonam.

Voor gevoeligheidsbepalingen voorziet CLSI sinds januari 2006 een tabel voor interpretatie van de zone-diameters voor *Acinetobacter spp.* apart van *Pseudomonas aeruginosa*. Bij *Acinetobacter spp.* wordt ampicilline-sulbactam (niet verkrijgbaar in België) en trimethoprim-sulfamethoxazole vermeld. Voor amoxicilline-clavulaanzuur zijn geen criteria vastgelegd. Voor de MIC bepaling is ook een aparte tabel voor *Acinetobacter spp.* voorzien met een andere selectie van antibiotica en andere interpretatiecriteria. Voor colistine zijn er nu ook criteria: S als kleiner of gelijk aan 2 en R als groter of gelijk aan 4 mg/l.

De stam die werd rondgestuurd was matig gevoelig aan ceftazidime. De gerapporteerde MIC waarden lagen tussen 4 en 16 mg/l. De criteria van CLSI zijn: S als kleiner of gelijk aan 8 mg/l, I als gelijk aan 16 mg/l en R als groter of gelijk aan 32 mg/l. Voor ernstige infecties wordt aangeraden de MIC waarde te bepalen. Indien carbapenems een goede activiteit vertonen dan zijn ze een alternatief voor behandeling.

Bevestiging van resistentie tegen ceftazidime en carbapenems is mogelijk in het referentielaboratorium (dienst microbiologie, Cliniques Universitaires - UCL, Mont-Godinne). Voor ceftazidime resistentie wordt gevraagd enkel stammen op te sturen die bij disk diffusie tot aan de rand van het schijfje groeien of een MIC van 32 mg/l of groter hebben.

K. Magerman, Virga Jesseziekenhuis, Hasselt

REFERENTIES

1. G. Claeys, M. Vaneechoutte. rapport microbiologie 2000/1: 6-10 http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/nl/rapports_2000.htm
2. Y. Glupczynski, P. Bogaerts, C. Bauraing. Acinetobacter baumannii : une bactérie qui fait de la résistance. Noso-info, vol. X, nr. 2, 2006
<http://www.md.ucl.ac.be/nosoinfo/Noso-info-0206.pdf>
3. B. Jans, Y. Glupczynski, C. Suetens, E. Van Cleemput. Epidemiologische enquête in verband met ESBL-producerende ACINETOBACTER BAUMANNII (type VEB-1) in België. IPH/IPE REPORTS Nr. 2004 - 18
<http://www.iph.fgov.be/epidemiology/epinl/nsihnl/acinetobacter.pdf>
4. T. Naas, P. Bogaerts, C. Bauraing, Y. Degeheldre, Y. Glupczynski and P Nordmann. Emergence of PER and VEB extended-spectrum beta-lactamases in Acinetobacter baumannii in Belgium. Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2006) 58, 178-182
5. P. Bogaerts, T. Naas, I. Wybo, C. Bauraing, O. Soetens, D. Piérard, P. Normann and Y. Glupczynski. Outbreak of Infection by Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii Producing the Carbapenemase OXA-58 in Belgium. Journal of Clinical Microbiology, Nov. 2006, Vol. 44, No 11, p. 4189-4192
6. F.S. Taccone, H. Rodriguez-Villalobos, D. De Backer, V. De Moor, J. Deviere, J.-L. Vincent, F. Jacobs. Successful treatment of septic shock due to pan-resistant Acinetobacter baumannii using combined antimicrobial therapy including tigecycline. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. (2006) 25: 257-260
7. CLSI Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement. M100-S16, Vol. 26 No. 3, Jan. 2006

2.2. Cultuur M/6699 *Microsporium canis*

Voor dit kwaliteitscontrolestaal werden huidschilfers nagebootst waaraan de dermatofyt *Microsporium canis* werd toegevoegd. De kweek van deze schimmel was niet zonder problemen. Ondanks het opsturen van een tweede staal naar een aantal laboratoria bleef de cultuur negatief bij 22% van de deelnemende laboratoria. De oorzaak van dit probleem is niet duidelijk.

Tinea corporis begint met een jeukend, circulair of ovaal, erythemateus schilferend letsel. Naarmate het letsel groter wordt zien we centraal een opklaring terwijl de actief voortschrijdende rand (enkele millimeter breed) rood blijft. Zo ontstaan de typische ringvormige letsels. Voor mycologisch onderzoek (rechtstreeks onderzoek en kweek) is het belangrijk dat de schilfers worden genomen aan de actief groeiende rand. Een aantal laboratoria voerden rechtstreeks microscopisch onderzoek uit op het staal en antwoordden dat er mycelium zichtbaar was maar dat de fungus niet in kweek kon worden gebracht. Bij microscopisch onderzoek van de 'huidschilfers' waren inderdaad hyfen alsook macroconidia (zie verder) zichtbaar. In dit opzicht verschilt dit kwaliteitscontrolestaal van klinische stalen aangezien *in vivo* enkel hyfen en arthroconidia (rechthoekige 'blokjes' gevormd uit hyfen door fragmentatie) aanwezig zijn en geen macroconidia (Fig.1).

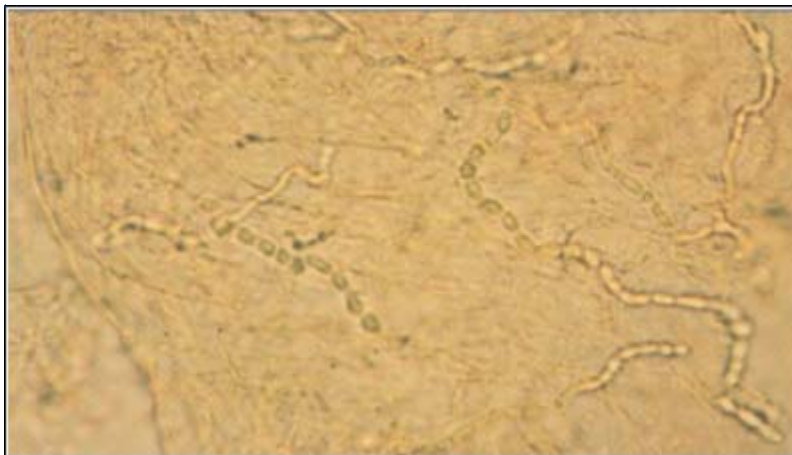




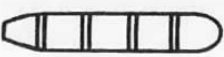

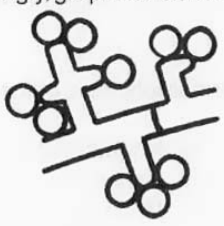
Fig. 1. Rechtstreeks microscopisch onderzoek van huidschilfers toont de aanwezigheid van hyfen en arthroconidia.

Voor het rechtstreeks microscopisch onderzoek van huidfragmenten is het gebruik van een kaliumhydroxide (KOH) oplossing (10-30% w/v) aangewezen. Keratine lost in de KOH oplossing op terwijl de fungale elementen intact blijven. Men kan ook lactofenolblauw gebruiken, dat het keratine op een mildere manier oplost en waardoor het preparaat langer houdbaar blijft. De gevoeligheid van het rechtstreeks microscopisch onderzoek kan verhoogd worden door toevoeging van een Calcofluor white oplossing (0,1%) aan de KOH oplossing (1:1, v/v) en onderzoek van de preparaten met een fluorescentiemicroscop (1).

Dermatofyten groeien eerder traag waardoor overgroei door saprofytaire schimmels aanwezig in de omgeving (o.a. *Aspergillus species*) een reëel probleem vormt bij cultuur op een Sabouraud bodem. Daarom worden huidschilfers best geënt op een selectieve bodem zoals een Sabouraud bodem waaraan cycloheximide (0,5%) is toegevoegd. Hou er wel rekening mee dat deze bodem de groei van bepaalde *Candida species* onderdrukt.

Onderscheid tussen de drie dermatofyten genera (*Microsporum spp.*, *Trichophyton spp.* en *Epidermophyton sp.*) kan op basis van gecombineerd macro- en microscopisch onderzoek. Tabel 1 is een eenvoudig schema op basis waarvan de meest voorkomende dermatofyten voorlopig kunnen geïdentificeerd worden op genus niveau. Voor een definitieve identificatie is het belangrijk om de micro- en macroscopische kenmerken te vergelijken met de kenmerken beschreven in microbiologische tekstboeken of mycologische atlanten (2,3).

Tabel 1. Microscopische eigenschappen van de genera waartoe dermatofyten behoren. Uit: M E. Kern and K. S. Blevins. *Medical Mycology: a self-instructional text. Second Edition.*, F.A. Davis Company, Philadelphia, 1997.

MICROSCOPIC CHARACTERISTICS OF DERMATOPHYTE GENERA			
	<i>Microsporum</i>	<i>Epidermophyton</i>	<i>Trichophyton</i>
Macroconidia:			
Quantity	Numerous	Numerous	Usually rare
Rough- /smooth-walled	Rough	Smooth	Smooth
Shape	Elliptical/spindle	Club	Pencil
Thick- /thin-walled	Thick or thin	Thin	Thin
Number of cells inside	Usually 3–7	Usually 2–4	Usually 3–8
			
Microconidia:			
Quantity	Few	Absent	Numerous or few
Shape	Club	—	Round, oval, or club
How borne	Singly	—	Singly/grapelike clusters
			

M. canis kolonies zijn dunne, witgele, wollige kolonies met een typisch radiaal verloopende groei (Fig. 2a). De kleur van de verso zijde van de kolonies is geeloranje (Fig. 2b).



Fig. 2. Macroscopisch aspect van *Microsporum canis* kolonies. a) recto zijde, b) verso zijde.

Om de structuren van de asexuele voortplanting (micro- en macroconidia) te kunnen waarnemen moeten we de fungus meestal overenten op een arm medium. In België gebruiken vele laboratoria hiervoor 'verdunde Sabouraud ook Takashio medium genaamd. Deze bodem bevat maar 1/10^{de} van de glucose (2 g) en peptone (1 g) concentratie die we normaal aantreffen in een Sabouraud agar (4). *M. canis* kolonies produceren gemakkelijk herkenbare macroconidia die spoelvormig zijn van vorm en een dikke ruwe wand bezitten (Fig. 3). De microconidia komen in een geringer aantal voor dan de macroconidia, zijn peervormig en zijn alternatief links en rechts ingeplant op het mycelium («acladium»). De ruwe, dikwandige macroconidia van *M. canis* zijn gemakkelijk te onderscheiden van de gladde, dunwandige macroconidia die we bij *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale* en *Trichophyton mentagrophytes* aantreffen. (*Trichophyton schoenleinii* produceert normaal geen micro- en macroconidia maar wel kandelaar-achtige structuren.) Toch identificeerden 12% van de deelnemers de schimmel in dit kwaliteitscontrolestaal als een *Trichophyton species*. Eén deelnemend laboratorium antwoordde *Cladosporium species*. Deze schimmel is echter zowel macroscopisch als microscopisch totaal verschillend van *M. canis*. Waarschijnlijk betreft het hier een contaminant.

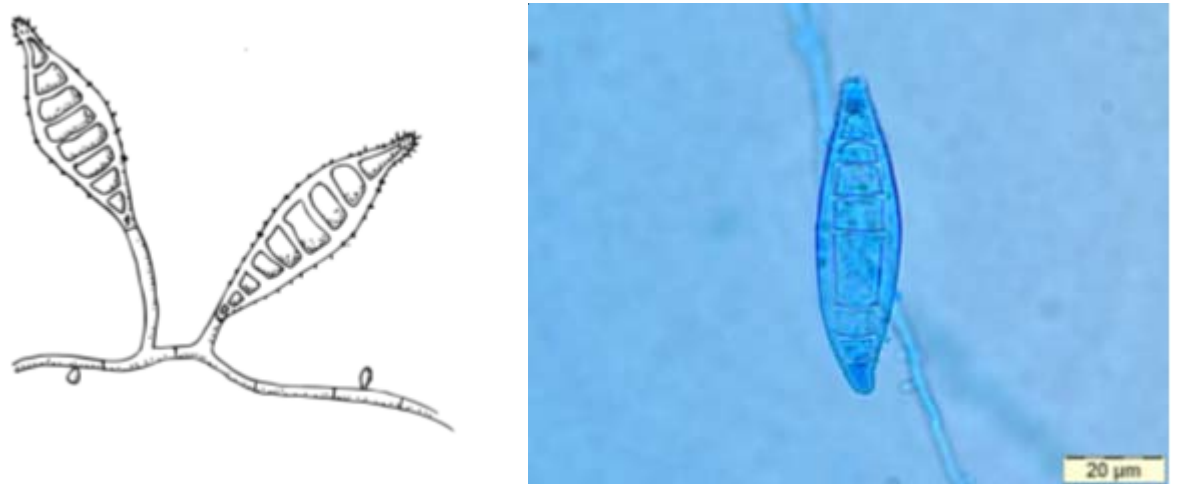


Fig. 3 Microscopisch aspect van *Microsporium canis* macroconidia.

Tekening Uit: D. Larone. *Medically important fungi. A guide to identification. 4th Edition. ASM Press, Washington, D.C, 2002.*

Een correcte species identificatie van dermatofyten heeft zijn belang niet alleen om epidemiologische redenen maar ook omdat kennis van het species informatie geeft over de besmettingsbron. We onderscheiden geofiele species (komen voor in de bodem en veroorzaken slechts zeldzaam tinea bij de mens, o.a. *Microsporium gypseum*), zoöfiele species (komen voor bij dieren maar kunnen ook de mens infecteren) en antropofiele species (komen alleen voor bij de mens, o.a. *T. rubrum* en *T. interdigitale*) (5). *M. canis* is een zoöfiele species dat wereldwijd voorkomt, vooral bij katten maar ook bij de hond, apen en occasioneel bij andere dieren. Deze schimmel kan ook aangetroffen worden in de vacht van deze dieren zonder dat deze symptomen vertonen (gezonde drager). Transmissie naar de mens via een gezonde drager kan leiden tot tinea capitis of tinea corporis (komt voornamelijk voor bij kinderen). De ziekte kan ook overgebracht worden door contact met een besmet voorwerp (b.v. een kussen).

De speciesdistributie van de verschillende dermatofyten gekweekt binnen de UZ Leuven (in 2001) uit huidschilfers van patiënten met tinea corporis was als volgt: de belangrijkste verwekker was *T. rubrum* (53%) gevolgd door *T. interdigitale* (40%). Uit 4% van de

huidschilfers kweekten we *M. canis*. *M. canis* was en is de belangrijkste verwekker van tinea capitis binnen de UZ Leuven.

Katrien Lagrou, UZ Gasthuisberg, Leuven

REFERENTIES

1. E.C. Hamer, C.B. Moore and D.W. Denning. Comparison of two fluorescent whiteners, Calcofluor and Blankophor, for the detection of fungal elements in clinical specimens in the diagnostic laboratory. *Clinical Microbiology and Infection*, 2006, 12: 1181-184.
2. M E. Kern and K. S. Blevins. *Medical Mycology: a self-instructional text. Second Edition.*, F.A. Davis Company, Philadelphia, 1997.
3. G.S. de Hoog, J. Guarro, J. Gené and M.J. Figueras. *Atlas of clinical fungi. Second Edition*, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, 2000.
4. M. Takashio. Sexual reproduction of some *Arthroderma* and *Nannizzia* on diluted Sabouraud agar with or without salts. *Mykosen*, 1972, 15: 11-17.
5. I. Weitzman, R.C. Summerbell. The dermatophytes. *Clinical microbiology reviews*, 1995, 8: 240-259

2.4. Cultuur M/6830 *H. parainfluenzae* + *S. viridans* (niet pathogenen)

De zending M/6830 was een boeiende oefening om na te gaan hoe laboratoria omgaan met kwaliteitscontrole stalen of stammen waarvan het resultaat, zacht uitgedrukt, een gevoel van onzekerheid of twijfel oproept. Het bevatte een mengsel van viridans streptokokken en *Haemophilus parainfluenzae* in een 1/1 verhouding.

Zoals steeds in de EEQ enquêtes van bacteriologie, werd er aan de laboratoria gevraagd enkel de pathogene kiemen te antwoorden.

Het staal was afgenomen in maart 2006 en begeleid met de klinische inlichtingen: *sputum afgenomen bij een man van 42j, licht mentaal geretardeerd, met koorts, hoesten, hoofdpijn, drie dagen na een busreis met vrienden van beschutte werkplaats naar Parijs. Gramkleuring toonde een preparaat met aardig wat neutrofielen (25 /hpf) en commensale flora +++.*

Telefonisch contact leerde dat een flink aantal van zijn collega's ook thuis zaten met koorts, hoofdpijn, hoesten.

Viruskweek werd positief bevonden voor Influenza B virus.

Wanneer we de resultaten nakijken kunnen we deze in grofweg drie gelijke groepen verdelen:

- 66 deelnemers (35%) kiezen ondubbelzinnig voor «geen pathogenen»
- 57 deelnemers (30%) geven eveneens aan dat ze «geen pathogenen» hebben gevonden maar voelen zich toch ongemakkelijk en verduidelijken welke 'niet pathogenen' ze hebben gevonden en dit zelfs tot op species niveau! Een dergelijk antwoord doet natuurlijk onmiddellijk de vraag rijzen hoe de labo's dit staal zouden rapporteren wanneer het niet in QC-verband zou zijn opgestuurd?
- 67 deelnemers (35 %) geven resoluut de naam van minstens één kiem door, daarmee aangevend dat ze deze belangrijk achten in dit staal. In deze groep vermelden 55 labos (29%) *Haemophilus parainfluenzae*, al of niet vergezeld van streptokokken als 'pathogeen'; 5 deelnemers vinden de streptokokken belangrijk genoeg maar maken geen melding van *Haemophilus*. Zeven labos geven een volledig foute identificatie.

Dat heel wat deelnemers zich wat ongemakkelijk voelen bij deze zending is af te leiden uit het groot aantal extra commentaren dat bij het resultaat werd gevoegd.

En in verband met de uitwerking en daaruit volgende rapportering van een staal is het volledig terecht dat men verwijst naar de (ontbrekende) Gram kleuring omdat deze inderdaad heel erg bepalend is (of zou moeten zijn).

Quasi alle laboratoria hebben nu uitgebreide neergeschreven procedures (SOPs) waarin de analyses besproken staan. Hierin worden de verschillende fasen van het onderzoek belicht, met dikwijls opvallend veel nauwkeurigheid wat betreft preanalytische fase, enting, rapportering.

Wat vaak met veel minder precisie wordt omschreven is de uitwerking van de stalen, nochtans één van de belangrijkste maar tegelijk ook moeilijkst standaardiseerbare onderdelen van de bacteriologie. Hier vindt men dan vage omschrijvingen, verwijzingen naar tekstboeken of zinnen als «de pathogenen worden verder uitgewerkt». (In de

praktijk betekent dit vaak dat de uitwerking afhankelijk zal zijn van de MLT die het staal onderzoekt.)

En inderdaad, wanneer men de literatuur naslaat om procedures te vinden over uitwerkrichtlijnen, toepasbaar op deze zending, is de opbrengst bijzonder mager. Enkel Isenberg ⁽¹⁾ maakt categorieën op en rangschikt *Haemophilus species* (not *H. influenzae*) en viridans streptokokken duidelijk in de groep van «Isolates consistent with organisms encountered in the upper respiratory tract». De Société Française de Microbiologie (SFM) noch de Nederlandse vereniging voor Medische Microbiologie (NVMM) hebben uitwerkbepalingen gesuggereerd.

Wanneer we verder in enkele naslagwerken gaan zoeken worden in de Murray ⁽²⁾ enkel *H. influenzae* en *S. pneumoniae* weerhouden als 'usual bacterial etiology of community acquired pneumonia (CAP)'. *Haemophilus species* en viridans streptokokken worden nergens vermeld.

In de Bijbel van de infectiologie (Mandell) staat het volgende te lezen: «*Haemophilus species*, other than *H. influenzae* and *H. ducreyi*, are unusual causes of disease in humans; ... *Haemophilus sp.* are present as part of the normal bacterial flora of the human upper respiratory tract. *H. influenzae* is the predominant species accounting for approximately three fourths of the *Haemophilus* flora of the human upper airway.» Maar er wordt nergens melding gemaakt van *H. parainfluenzae* of viridans streptokokken als verwekker van lage luchtweginfecties.

Een andere approach kan zijn na te gaan wat de recente guidelines rond pneumonie (CAP in dit geval) in hun etiologie weerhouden. Zowel de Belgische IDAB, de Amerikaanse IDSA, de Canadese IDS als de Britse BTS guidelines vermelden nergens *H. parainfluenzae* of viridans streptokokken als mogelijke verwekker van lage luchtweginfecties ⁽⁴⁻⁸⁾. (Omgekeerd vertelt de IDSA ⁽⁵⁾ ons wel dat: «Except for *Legionella species* and *Mycobacterium tuberculosis*, growth of virtually all other bacteria, including *Nocardia* and *Actinomyces species*, might be nondiagnostic if recovered from usual respiratory specimen samples».)

Het mag dus ondertussen wel duidelijk zijn dat wanneer men een (QC-)staal krijgt met een mengsel van twee kiemen die geen van beide tot de onderste luchtweg pathogenen gerekend worden het geraadzaam is de diagnostische horizon te verruimen. Men mag niet vergeten dat wanneer de clinicus een staal voor microbiologische analyse opstuurt, hij dit doet om een diagnose te verwerven of te bevestigen. Indien de Gramkleuring aangeeft dat het staal van goede kwaliteit is, is het fout om de aanvrager op een verkeerd been te zetten door het doorgeven van niet significante resultaten. Het is een achterhaald concept dat het laboratorium alle gevonden kiemen moet vermelden en de interpretatie aan de aanvrager moet overlaten! Integendeel, het is aan de specialist ter zake t.t.z. de microbioloog om de kweek te interpreteren gebruik makend van alle gegevens waarover hij beschikt (staaltype, Gramkleuring, leeftijd patiënt, klinische inlichtingen,...) of die hij nodig/nuttig acht (telefonisch contact kan wonderen doen). In een context zoals bij deze casus is het dus aangewezen om de 'horizon' te verruimen: heeft patiënt reeds antibiotica gekregen die onze 'negatieve' kweek kunnen verklaren, is er een virale oorzaak overwogen, heeft patiënt slikstoornissen of een anamnese van verslikken of van bewustzijnsverlies, moet er eventueel aan *Legionella* of tuberculose gedacht worden, enz ...?

Het stemt dan ook optimistisch dat zovele laboratoria commentaren hebben toegevoegd, klinisch overleg suggereren en/of andere testen aanraden.

Een aantal deelnemers deden anderzijds de moeite om te verklaren waarom ze de *H. parainfluenzae* toch weerhielden en enkelen verwezen o.a. naar een artikel van Pillai in *Thorax*⁽¹¹⁾. Het blijft fascinerend om te zien dat zelfs voor artikels in peer-reviewed tijdschriften men bij de pinken moet blijven zeker wanneer een tijdschrift (klinisch georiënteerd in dit geval) 'disciplineoverschrijdende' (microbiologische) artikels

publiceert. In het bewuste artikel bespreekt men een *H.parainfluenzae* pneumonie bij een immuuncompetente patiënte maar 'vergeet' men te vermelden hoe men de identificatie van de kiem heeft gedaan!! Men beschrijft eveneens een *H.parainfluenzae* IgM positieve reactie in een 'home made' test maar 'vergeet' de specificiteit van deze test aan te tonen.

Dat *H.parainfluenzae* kan pathogeen zijn in welbepaalde omstandigheden (genitale stalen, endocarditis, ...^(3,9,10)) lijdt geen twijfel. Dat de kiem daarom in alle omstandigheden moet gerapporteerd worden is een heel andere zaak.

Hetzelfde kan gezegd worden over viridans streptokokken al haalt eigenaardig genoeg niemand hier literatuur bij ⁽¹²⁾.

In conclusie kan gesteld worden dat twee derden van de laboratoria voor dit staal geen bacteriële oorzaak van respiratoire infectie weerhouden. De helft van deze groep doet dit wel met enige aarzeling en het zou interessant zijn te vernemen hoe hun antwoord in de dagelijkse routine vorm krijgt.

Anderzijds moet benadrukt worden dat een derde van de deelnemers een resultaat doorgeeft dat zowel naar diagnose als naar therapie toe verkeerde conclusies kan uitlokken.

Hans De Beenhouwer, OLV Ziekenhuis, Aalst

REFERENTIES

1. Clinical Microbiology Procedures Handbook. H. Isenberg; 2nd edition ASM Press Washington DC. 2004
2. Manual of Clinical Microbiology 8th Edition PR Murray, EJ Baron, JH Jorgensen, MA Pfaller, RH Tenover, Tenover FC. ASM Press Washington DC. 2003
3. Principles and Practice of Infectious Diseases. Mandell, Douglas, and Bennett's; 6th Edition Elsevier 2005
4. Initiële diagnostische en Therapeutische Benadering van CAP bij de Immuuncompetente Volwassene IDAB 2002-2003
5. Practice Guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults. Bartlett JG, Dowell SF, Mandell LA, File TM Jr, Musher DM, Fine MJ. *Clin Infect Dis* 2000; 31:347-82.
6. Guidelines of the Management of Community acquired Pneumonia in adults. Macfarlane JT, Boswell T, Douglas G, Finch R, Holmes W, Honeybourne D, Lim WS, Marriott R, Nathwani D, Saul P, Woodhead M, Wyatt J. *BTS. Thorax* 2001; 56, suppl 4: 1-64.
7. Canadian Guidelines for the initial management of community-acquired pneumonia: an evidence-based update by the Canadian Infectious Diseases Society and the Canadian Thoracic Society. The Canadian Community-Acquired Pneumonia Working Group. Mandell LA, Marrie J, Grossman RF, Chow AW, Hyland RH. *Clin Infect Dis* 2000; 31:383-421.
8. Update of Practice Guidelines for the Management of Community-Acquired Pneumonia in Immunocompetent Adults. Lionel A. Mandell, John G. Bartlett, Scott F. Dowell, Thomas M. File, Jr., Daniel M. Musher, and Cynthia Whitney, *Clin Infect Dis* 2003; 37:1405-33
9. *Haemophilus parainfluenzae* Sepsis in a Very Low Birth Weight Premature Infant: A Case Report and Review of the Literature. Rosa Victoria Chen, John S Bradley. *J. Perinatology* 1999; 19, 315-317
10. Distribution of *Haemophilus influenzae* and *Haemophilus parainfluenzae* biotypes isolated from the human genitourinary tract. E. B. Drouet, G. A. Denoyel, M. M. Boude, G. Boussant H. P. de Montclos. *Eur J.Clin Micr Inf Dis* 1989 ; 8 951-955
11. A case of *Haemophilus parainfluenzae* pneumonia. A Pillai, J L Mitchell, S L Hill and R A Stockley. *Thorax* 2000;55;623-624
12. Primary Streptococcus viridans pneumonia. Sarkar TK, Murarka RS, Gilardi GL. *Chest*. 1989 4 831-4

III. RESULTATEN VAN DE IDENTIFICATIES (N = 191)

De correcte of aanvaardbare resultaten zijn onderlijnd.

3.1. Cultuur M/2090 *Enterococcus faecium* (hemocultuur)

<u><i>Enterococcus faecium</i></u>	184 (96.3%)
<u><i>Enterococcus species</i></u>	3 (1.6%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1
Niet behandeld door het laboratorium	2

Opmerking: 2 van de 3 laboratoria die *Enterococcus species* antwoordden, zouden de stam doorsturen voor verdere identificatie/differentiatie.

7 laboratoria vermeldden expliciet de aanwezigheid van het «Van B»; 5 vermeldden dat het VRE (Vancomycine Resistente Enterokokken) betreft; en 1 laboratorium vermeldde «VRE» en «Van B».

3.2. Cultuur M/4371 *Acinetobacter baumannii* (longaspiraats)

<u><i>Acinetobacter baumannii</i></u>	159 (83.2%)
<u><i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i></u>	6 (3.1%)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1 (0.5%)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> var <i>anitratu</i> s	1 (0.5%)
<u><i>Acinetobacter species</i></u>	22 (11.5%)
<i>Enterococcus faecium</i>	1
<i>Burkholderia species</i>	1

3.3. Cultuur M/6699 *Microsporium canis* (huidschilfers)

<i>Microsporium canis</i>	65 (34.0%)
<i>Microsporium canis</i> var <i>canis</i>	1 (0.5%)
<i>Microsporium species</i>	10 (5.2%)
Croissance positif (wordt doorgestuurd voor identificatie)	5 (2.6%)
Niet uitgevoerd in routine (wordt doorgestuurd)	36 (18.8%)
Geen groei	37
Mycelium zichtbaar op rechtstreeks onderzoek maar geen groei	5
<i>Trichophyton rubrum</i>	9
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	7
<i>Trichophyton species</i>	5
<i>Trichophyton schoenleinii</i>	1
<i>Trichophyton interdigitale</i>	1
<i>Cladosporium species</i>	1
Geen antwoord	8

Opmerking: een aantal laboratoria verkreeg ook op het tweede staal dat zij ontvangen hebben geen groei; bij enkele andere verliep de groei op dit tweede staal dermate langzaam dat wij ons helaas verplicht zagen de enquête af te sluiten vooraleer dit antwoord toegekomen was. Nog andere laboratoria hebben de laatste dagen van de enquête een Sabouraud ontvangen waarop de stam reeds in cultuur gebracht was om hun toe te laten de stam alsnog te identificeren (gezien de tijd te kort was om de schilfers nog in het laboratorium in kweek te brengen en vervolgens te identificeren, verkozen wij deze handelwijze).

De stam zal beschouwd worden als didactisch en de resultaten zullen niet in aanmerking genomen worden voor de beoordeling van de resultaten van de laboratoria.

Wij bieden ook aan alle laboratoria die geen groei verkregen hebben de mogelijkheid om ons een gegroeide stam te vragen zodat zij deze kiem toch rechtstreeks kunnen bekijken.

3.4 **Cultuur M/6830** Afwezigheid van pathogenen (sputum; bevatte *H. parainfluenzae* + viridans streptokokken)

<u>Afwezigheid van pathogenen</u>	66	(34.5%)
<u>Afwezigheid van pathogenen (<i>H. parainfluenzae</i> + viridans streptokokken)</u>	19	(9.9%)
<u>Afwezigheid van pathogenen (<i>H. parainfluenzae</i>)</u>	16	(8.4%)
<u>Afwezigheid van pathogenen (<i>H. parainfluenzae</i> + α-hemolytische streptokokken)</u>	2	(1.0%)
<u>Afwezigheid van pathogenen (<i>H. parainfluenzae</i> + <i>S.alactolyticus</i>)</u>	5	(2.6%)
<u>Afwezigheid van pathogenen (<i>H. parainfluenzae</i> + <i>S.sanguinis</i>)</u>	5	(2.6%)
<u>Afwezigheid van pathogenen (<i>H. parainfluenzae</i> + <i>S.salivarius</i>)</u>	2	(1.0%)
<u>Afwezigheid van pathogenen (<i>H. parainfluenzae</i>: kan uitzonderlijk pathogeen zijn; overleg met clinicus aangewezen)</u>	2	(1.0%)
<u>Afwezigheid van pathogenen (<i>H. parainfluenzae</i> + <i>S.salivarius salivarius</i>)</u>	1	(0.5%)
<u>Afwezigheid van pathogenen (<i>H. parainfluenzae</i> + <i>S.milleri</i>)</u>	1	(0.5%)
<u>Afwezigheid van pathogenen (<i>H. parainfluenzae</i> + <i>S.mitis</i>)</u>	1	(0.5%)
<u>Afwezigheid van pathogenen (<i>H. parainfluenzae</i> + <i>Leuconostoc species</i>; gezien de context zou er een PCR voor Legionella aangeraden worden)</u>	1	(0.5%)
<u>Afwezigheid van pathogenen (<i>Haemophilus niet influenzae</i> + viridans streptokokken)</u>	1	(0.5%)
<u>Salivaire Flora (negatief op <i>Legionella</i>, <i>Mycobacteriën</i> en <i>Aspergillus</i>)</u>	1	(0.5%)
<u><i>H. parainfluenzae</i> : pathogeniciteit te beoordelen aan de hand van kliniek en gramkleuring (prurulent sputum ? overwegend gramnegatieve staven ?</u>	1	(0.5%)
<i>H. parainfluenzae</i>	41	
<i>H. parainfluenzae</i> + <i>S.sanguinis</i>	7	
<i>H. parainfluenzae</i> + <i>S. alactolyticus</i>	1	
<i>H. parainfluenzae</i> + <i>S. mitis</i>	1	
<i>H. parainfluenzae</i> + α -hemolytische streptokokken	1	
<i>H. parainfluenzae</i> + Lactococcus/Gemella groep	1	
<i>H. parainfluenzae</i> + commensale flora	1	
<i>H. influenzae</i>	3	
<i>H. influenzae</i> + <i>S.sanguinis</i>	1	
<i>H. haemolyticus</i>	1	
Viridans streptokokken	2	
<i>S. alactolyticus</i>	1	
<i>S. salivarius</i>	1	
<i>S. sanguis</i>	1	
<i>L. lactis</i>	1	
<i>P. pneumotropica</i>	1	
<i>Pasteurella species</i>	1	
Geen antwoord	1	

Opmerking : Onder « Afwezigheid van pathogenen » werden alle vergelijkbare antwoorden gerangschikt : commensale flora, normale flora, banale flora, mondflora, oropharyngeale flora, ...

IV. ANTIBIOGRAM

Een algemeen overzicht van de resultaten wordt gegeven bij het begin van de bespreking. In de verdere verwerking worden de resultaten geanalyseerd naargelang methode. Het type antibiogram werd opgesteld door verschillende experts.

4.1. Cultuur M/2090 (*Enterococcus faecium*)

Aantal deelnemers = 189 (de 2 laboratoria die dergelijke stalen in routine doorsturen, hebben uiteraard geen antibiogram bepaald).

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 4.1.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/2090 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	I	R	*
Ampicilline	R	184	35	5	143 ³	1 ⁴
Amoxicilline ¹	R	4	3		1	
Gentamicine ²	S	176	137	8	11	20 ⁵
Vancomycine	R	189	3	11	173 ³	2 ⁶
Teicoplanine	S	147	144	1	2	

¹ Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor amoxicilline in plaats van voor ampicilline.

² Het verwachte resultaat betreft het resultaat van "High level gentamicine" (hetgeen men dient te testen voor enterokokken); niet alle laboratoria hebben echter de gevoeligheid voor de "high level" bepaald.

³ Twee laboratoria vermeldden dat gezien de resistentie deze stam in routine voor bevestiging van identificatie en/of antibiogram zou doorgestuurd worden naar een referentielaboratorium.

⁴ Antwoord van 1 laboratorium: "Het resultaat van de gevoeligheidsbepaling voor ampicilline is R of S afhankelijk van methode; communicatie met clinicus noodzakelijk. Keuze van het AB zal zeker mee bepaald worden door de oorzaak van de bacteriemie."

⁵ Onder "*" hebben wij voor gentamicine volgende antwoorden samengevat:

- 1 laboratorium dat deze kiem voor dit antibiogram doorstuurt
- 1 laboratorium dat "low level resistance" antwoordde
- 2 laboratoria die geen finale resultaat antwoordden
- 3 laboratoria die vermeldden dat het uittesten van "High level gentamicine" (waarover zij niet beschikken in hun laboratorium) noodzakelijk is
- 13 laboratoria antwoordden dat synergie met penicilline (of celwand actieve antibiotica) mogelijk is indien deze laatste zelf gevoelig zijn (waarbij een aantal laboratoria vermeldden dat dit voor de huidige kiem niet het geval is voor penicilline; 1 laboratorium vermeldde dat dit voor deze kiem wel gold voor teicoplanine)

⁶ Onder "*" hebben wij voor vancomycine volgende antwoorden samengevat:

- 1 laboratorium dat antwoordde dat het resultaat "niet-interpreteerbaar" was maar dat men hiervoor over "vanco 5" dient te beschikken
- 1 laboratorium bekwam verschillende resultaten met de schijfjesmethode ("I") en het vancoscreen milieu ("R") en noteerde als slotconclusie dat een MIC-bepaling noodzakelijk was

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.

Tabel 4.1.2. Bekomen diameters met de schijfjesmethode volgens CLSI voor staal M/2090 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	33 (36)	10	12	6 - 20	7	-	29
Gentamicine ¹	(27)				19	1	7 ²
	8 (8)	10	17.5	10 - 24	3	-	5 ³
	15 (15)	120	23	15 - 29	12	1	2
Vancomycine	30 (32)	30	12.5	6 - 16	-	2 ²	30
Teicoplanine	8 (9)	30	19	16 - 22	8	-	1

¹ Hoewel voor enterokokken de bepaling van resistentie tegen 'high level gentamicine' aangewezen is, zijn er toch 8 laboratoria die de resistentie bepaalden met een schijfje met een lading van 10 µg.

² 2 laboratoria gaven wel een antwoord "R" voor de bepaling met een schijfje van 10 µg maar vermeldden dat een bepaling met "high level gentamicine" noodzakelijk is voor de enterokokken; het valt ook op te merken dat 1 laboratorium hier vermeldde "R indien geen associatie in vivo"

³ 1 van deze beide laboratoria is het laboratorium dat een resultaat "I" bekam met de schijfjes methode en "R" met vancoscreen en concludeerde dat een MIC-bepaling noodzakelijk is

Tabel 4.1.3. Bekomen diameters met de schijfjesmethode volgens ROSCO voor staal M/2090 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Ampicilline	51 (63)	33	19	9 - 27	24 ³	4	35	-
Amoxicilline	4 (4)	30	25	23 - 27	3	-	1	-
Gentamicine ¹	(71)				57	2	5	7 ⁴
	18 (18)	40	23	17 - 26	12	1	3	2 ⁵
	46 (49)	250	28	20 - 40	43	1	1	4 ⁶
Vancomycine ²	(69)				2	3	59	5 ⁷
	52 (54)	5	10	9 - 15	-	-	50	4 ⁸
	8 (8)	70	15.5	6 - 17	2	2	3	1 ⁹
Teicoplanine	39 (47)	60	21	6 - 27	45	1	1	-

¹ Hoewel voor enterokokken de bepaling van resistentie tegen 'high level gentamicine' aangewezen is, zijn er toch 18 laboratoria die de resistentie bepaalden met een schijfje met een lading van 40 µg.

² Hoewel voor de bepaling van resistentie tegen vancomycine door enterokokken het gebruik van een disk met een lading van 5 µg aangeraden is, zijn er toch 8 laboratoria die de resistentie bepalen met een schijfje met een lading van 70 µg.

³ Antwoord van 1 laboratorium: "Het resultaat van de gevoeligheidsbepaling voor ampicilline is R of S afhankelijk van methode; communicatie met clinicus noodzakelijk. Keuze van het AB zal zeker mee bepaald worden door de oorzaak van de bacteriëmie."

⁴ Onder "*" hebben wij voor gentamicine volgende antwoorden samengevat:

- 1 laboratorium dat "low level resistance" antwoordde
- 1 laboratorium dat geen finale resultaat antwoordde
- 1 laboratorium dat vermeldde dat het uittesten van "High level gentamicine" (waarover zij niet beschikken in hun laboratorium) noodzakelijk is
- 4 laboratoria antwoordden dat synergie met penicilline (of celwand actieve antibiotica) mogelijk is indien deze laatste zelf gevoelig zijn

⁵ Dit betreft:

- het laboratorium dat geen finale resultaat antwoordde
- het laboratorium dat vermeldde dat het uittesten van "High level gentamicine" (waarover zij niet beschikken in hun laboratorium) noodzakelijk is

⁶ Dit betreft de 4 laboratoria die antwoordden dat synergie met penicilline (of celwand actieve antibiotica) mogelijk is indien deze laatste zelf gevoelig zijn

- ⁷ Dit betreft:
- 4 laboratoria die vermeldden dat het resultaat van de E-test primeert
 - 1 laboratorium dat antwoordde dat het resultaat "niet-interpreteerbaar" was maar dat men hiervoor over "vanco 5" dient te beschikken
- ⁸ Dit betreft de 4 laboratoria die vermeldden dat het resultaat van de E-test primeert
- ⁹ Dit betreft het laboratorium dat antwoordde dat het resultaat "niet-interpreteerbaar" was maar dat men hiervoor over "vanco 5" dient te beschikken

Gezien 38% van de gebruikers van de Rosco-schijfjes een resultaat "S" bekwamen, heeft de firma International Medical (de verdeler in België van deze schijfjes), enkele exemplaren van deze stam opgevraagd en voor verdere analyse naar de hoofdzetel verstuurd. De firma Rosco verstrekte volgend antwoord:

"The CLSI recommends MICs to be performed as broth dilution or agar dilution. Due to the poor stability of ampicillin in liquid media (broth), agar dilution methods are preferred for performing MICs with this antimicrobial. Our results using ampicillin agar dilution showed an MIC of 8 µg/ml against ampicillin for strain M/2090. In our test were included strains with known ampicillin MICs as Control Strains.

The normal distribution of enterococci have MIC's in the interval 0.25-2 µg/ml and therefore the tested strain has an elevated MIC, however if the breakpoints from CLSI are followed (≤ 8 µg/ml susceptible/ ≥ 16 µg/ml resistant) the strain is a borderline strain with MIC= 4-16 µg/ml ~ 8 µg/ml plus/minus one dilution.

Taking into account the mentioned instability of ampicillin in solution, as well as the normal variation of MIC tests (plus/minus one dilution) we may conclude that a method indicating MIC 8 µg/ml as susceptible and 16 µg/ml as resistant, will be difficult to apply, when a borderline strain (such as M2090) is used for testing. We do not understand, why you include borderline strains like M/2090 in your sendings. If the strain is resistant, it has to be demonstrated using official (Reference) MIC tests (such as agar dilution) not using E-test or commercialized machines that give only approximate results. Misinformation may be concluded when using the interpretation result from the majority of participants on a borderline strain.

No matter if the strain is called S or R to ampicillin, MIC= 4-16 µg/ml ~ 8 µg/ml plus/minus one dilution, serious enterococcal infections are not recommended to be treated with ampicillin alone. In our case being a strain isolated from blood, the treatment will be high dosage ampicillin plus gentamicin, because the strain is not HLR to gentamicin. If the clinician receives the result ampicillin R (without MIC value) it is probable, that he will not use ampicillin + gentamicin for treatment that could be unfortunate with strain M/2090 because the strain is vancomycin resistant."

De resultaten die met de E-test bekomen werden, zijn samengevat in onderstaande tabel.

Tabel 4.1.4. Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor staal M/2090 (*Enterococcus faecium*).

	MIC (mg/l)											Resultaat			
	Aantal resultaten	0,125	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	>	S	I	R
Ampiciline	15			*									8	1	6
Gentamicine	4		1										4	-	-
Vancomycine	46		1	2	4	8	16	32	64	128	256		-	4	42
Teicoplanine	21		1	9	8	1							19	-	2

* MIC-waarde niet vermeld

Gezien de resultaten van bekomen met de E-test sterk uiteenlopen werd de firma Lucron (de verdeler in België van deze schijfjes) gecontacteerd en werden, via hen enkele exemplaren voor verdere analyse naar ABBIODISK verstuurd. Deze laatste firma heeft reeds een aantal testen uitgevoerd om de verschillen tussen de antwoorden te kunnen verklaren. U vindt hun antwoord hieronder:
 "Depending on which media and inoculum is used the results varies between the S and R categories. When reading Etest Ampicillin which has a bactericidal mode of action it is very important to select the endpoint at 100% inhibition. Tilting the plate against a good source of light, using transmitted light and/or using a magnifying glass will facilitate reading of hazes and microcolonies. It appears this strain is affected by the MH media brand and inoculum density which gave more or less trailing and this could explain the broad range of MIC results and varying categories. A MIC result could vary by +/- 1 dilution at best on repeated testing which cause category changes between S and R for this particular strain.

The triplicate test result when using the CLSI reference broth microdilution technique was 8 µg/mL, i.e. susceptible which correlate with the Etest results in our laboratory. But again, on repeated testing with other brands of MH broth and other inherent technical variables, the BMD could easily be 16 µg/mL."

Zij zullen nog verdere onderzoeken verrichten om het gedrag van deze kiem beter te begrijpen.

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/2090 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Vitek 2			Vitek 2 compact						
	Finaal resultaat	Meest vermelde verdunning	Aantal labo's dat deze verdunning vermelde (Totaal aantal gebruikers)	Finaal resultaat	Meest vermelde verdunning	Aantal labo's dat deze verdunning vermelde (Totaal aantal gebruikers)				
	S	I	R *	S	I	R *				
Ampiciline	-	-	57 ¹	16	43 (58)	- - 13 -	16	10 (13)		
Gentamicine	45	1	- 9 ²	Zie	26 (55)	12 - - 1 ⁶	Zie	8 (13)		
Vancomycine	1	-	54 ⁴	opmerking ³	≥ 32	49 (56)	- - 13 -	opmerking ³	≥ 32	12 (13)
Teicoplanine	56	-	- 1 ⁵	≤ 0,5	50 (57)	13 - - -	≤ 0,5	12 (13)		

¹ 1 laboratorium vermeldde dat het resultaat van de E-test primeert.

² 9 laboratoria antwoordden dat synergie met penicilline (of celwand actieve antibiotica) mogelijk is indien deze laatste zelf gevoelig zijn (waarbij 1 laboratorium expliciet vermeldde dat dit voor de huidige kiem niet het geval is gezien de penicillines resistent zijn)

³ De meerderheid van de Vitek-gebruikers vermeldden hier als commentaar: "HC" (High Concentration), "HL" (High level), SYN of SYN-S; al deze opmerkingen dienen geïnterpreteerd te worden dat er synergie mogelijk is.

⁴ 1 laboratorium vermeldde dat het resultaat van de E-test primeert.

⁵ 1 laboratorium vermeldde dat het resultaat van de E-test primeert.

⁶ 1 laboratorium antwoordde geen finaal resultaat.

In de meeste gevallen is de 'meest vermelde verdunning' de enige die vermeld werd door de deelnemers; een aantal laboratoria vermeldden 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:

- voor ampicilline vonden 9 laboratoria met Vitek 2 en 1 met Vitek 2 compact een verdunning ≥ 32 mg/l
- voor vancomycine vond 1 laboratorium een verdunning ≤ 1 mg/l met Vitek 2
- voor teicoplanine vond 1 deelnemer een verdunning van 2 mg/l met Vitek 2

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/2090 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Ampicilline	1	-	8
Gentamicine	3	4	1
Vancomycine	-	3	6
Teicoplanine	8	-	-

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.1.7.

Tabel 4.1.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/2090 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Resultaat			Meest vermelde verdunning	Aantal labo's dat deze verdunning vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Ampicilline	-	-	8	>8	8 (8)
Gentamicine	5	-	-	≤ 500	4 (5)
Vancomycine	-	-	7	> 16	7 (7)
Teicoplanine	7	-	-	≤ 1	7 (7)

De resultaten bekomen met de toestellen Osiris en Sirscan worden weergegeven in tabel 4.1.8. tot en met 4.1.9. Er zijn momenteel nog te weinig gebruikers (of te weinig gebruikers die een kwantitatief resultaat antwoorden) van deze toestellen om de kwantitatieve resultaten statistisch zinvol te verwerken. Indien het aantal gebruikers toeneemt, zal dit uiteraard wel het geval zijn.

Tabel 4.1.8. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/2090 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Resultaat			
	S	I	R	*
Ampicilline	-	-	3	1
Gentamicine	2	-	1	-
Vancomycine	-	-	1	2
Teicoplanine	1	-	-	-

* Hieronder worden deze laboratoria gerangschikt die vermeld hebben dat het resultaat van de E-test primeert

Tabel 4.1.9. Resultaten bekomen met de Sirscan voor staal M/2090 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Ampicilline	1	-	2
Gentamicine	2	-	1
Vancomycine	-	1	1
Teicoplanine	1	-	-

Tot slot dient vermeld dat:

- 9 laboratoria met de Vancoscreen-bodem een resultaat "R" bekwamen; 1 van deze 9 is het laboratorium dat met de schijfjesmethode een resultaat I bekwam en de stam dus zou doorsturen voor MIC-bepaling
- 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:

- Ampicilline:
 - ♣ S →I
 - Rosco: 1 labo
 - ♣ I →R
 - Rosco: 1 labo
 - E-test: 1 labo
 - Vitek 2: 1 labo
- Amoxicilline:
 - ♣ S →R
 - Rosco: 1 labo
- Gentamicine
 - ♣ S →I
 - Rosco: 1 labo
 - Vitek 2: 1 labo
 - ♣ S →R
 - Papieren schijfjes: 3 labo's
 - Rosco: 1 labo
 - Osiris: 1 labo
 - Sirscan: 1 labo
 - ♣ R →S
 - Rosco: 1 labo
- Vancomycine
 - ♣ S →R
 - E-test: 1 labo
 - ♣ I →R
 - Papieren schijfjes: 2 labo's
- Teicoplanine
 - ♣ S →I
 - Rosco: 1 labo
 - ♣ S →R
 - Rosco: 1 labo

Nota: om reden van vereenvoudiging van bovenstaand overzicht zijn hierin enkel deze laboratoria opgenomen die een "klasse-wijziging" rapporteerden (vb. S→R) en niet deze die een wijziging naar een commentaar (vb. verwijziging naar een andere techniek, niet antwoorden van finaal resultaat, verwijziging naar synergie,...) vermeldden.

4.2. Cultuur M/4371 (*Acinetobacter baumannii*)

Aantal deelnemers = 191

Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid met meer dan 1 methode

Niet alle deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor alle antibiotica. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor meer dan één chinolone en/of cefalosporine. 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/4371 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	I	I/R	R	*
Ampicilline	R	172	1	1	-	169	1 ⁵
Amoxicilline ¹	R	6	-	-	-	6	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	R	177	17	28 ⁴	-	127	5 ^{5,6}
Piperacilline-tazobactam	I/S	167	54	95	1	16	1 ⁵
Cefalosporines 3e generatie							
Cefotaxime	R	52	4	10	-	38	-
Cefpodoxime	R	1	-	-	-	1	-
Ceftazidime	S	118	67	47	-	3	1 ⁵
Ceftriaxone	I	19	-	13	-	6	-
Cefepime	S/I	8	2	4	-	2	-
"cefalosporine" ²		8	2	5	-	1	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	S	132	116	13	-	3	-
Levofloxacin	S	30	30	-	-	-	-
Moxifloxacin	S	5	5	-	-	-	-
Norfloxacin	S	5	1	3	-	1	-
Ofloxacin	S	21	17	3	-	-	1 ⁵
"Chinolone" ³	S	8	6	1	-	1	-

¹ Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor amoxicilline in plaats van voor ampicilline.

² Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte cefalosporine niet.

³ Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

⁴ Eén laboratorium gaf wel het antwoord "I" maar vermeldde dat dit in routine niet geantwoord zou worden.

⁵ Eén laboratorium vermeldde wel lading, methode en diameter voor staal M/4371, maar niet de interpretatie voor ampicilline, amoxicilline-clavulaanzuur, piperacilline-tazobactam, ceftazidime en ofloxacin.

⁶ Dit betreft:

- het hierboven onder punt 5 vermeldde laboratorium
- 1 laboratorium dat geen finaal resultaat antwoordde
- 1 laboratorium dat vermeldde dat er geen CLSI-criteria bestaan voor amoxicilline-clavulaanzuur voor *A. baumannii*
- 1 laboratorium dat vermeldde dat amoxicilline-clavulaanzuur therapeutisch geen optie is voor *A. baumannii*
- 1 laboratorium dat vermeldde dat het resultaat afhankelijk was van de gebruikte methode: "S" met Rosco en "R" met Phoenix; in routine antwoordt dit laboratorium geen amoxicilline-clavulaanzuur voor *A. baumannii*; indien er specifiek zou naar gevraagd worden, zou het labo in dit geval "R" antwoorden

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 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.

Tabel 4.2.2. Bekomen diameters met de schijfjesmethode volgens CLSI voor staal M/4371 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Ampicilline	31 (33)	10	6	6 - 15	-	1	30	2 ^{1,2}
Amoxicilline-clavulaanzuur	16 (27)	20 + 10	12	6 - 16	-	7	19	1 ²
Piperacilline-tazobactam	28 (32)	100 + 10	20	7 - 22	14	13	3	2 ^{2,3}
Cefalosporines 3e generatie								
Cefotaxime	11 (12)	30	14	6 - 20	-	5	7	-
Ceftazidime	21 (23)	30	19	17 - 24	19	1	1	2 ^{2,3}
Ceftriaxone	4 (4)	30	12	6 - 16	-	2	2	-
Cefepime	2 (2)	30	16	13 - 19	1	-	1	-
Chinolones								
Ciprofloxacin	22 (25)	5	23	17 - 33	22	2	-	1 ³
Levofloxacin	7 (7)	2	25	23 - 30	7	-	-	-
Moxifloxacin	1 (1)	5	22	22 - 22	1	-	-	-
Norfloxacin	2 (2)	10	17	16 - 18	-	1	1	-
Ofloxacin	5 (5)	5	22	20 - 26	4	-	-	1 ²
"Chinolone"								

- ¹ Eén van beide laboratoria voerde wel een bepaling met schijfjes uit, doch verstreekte geen interpretatie voor deze methode; het gaf wel een interpretatie voor de Vitek 2. Het andere laboratorium is hetgene dat hierna onder punt 2 vermeld wordt.
- ² Eén laboratorium vermeldde wel lading, methode en diameter voor staal M/4371, maar niet de interpretatie voor ampicilline, amoxicilline-clavulaanzuur, piperacilline-tazobactam, ceftazidime en ofloxacin.
- ³ Eén laboratorium vermeldde dat het resultaat van de E-test primeert voor piperacilline-tazobactam, cefotaxime en ciprofloxacin.

Tabel 4.2.3. Bekomen diameters met de schijfjesmethode volgens ROSCO voor staal M/4371 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)				
					S	I	I/R	R	*
Ampicilline	47 (56)	33	11	8 - 30	1	-	-	55	-
Amoxicilline	6 (6)	30	13	11 - 14	-	-	-	6	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	57 (64)	30 + 15	20	11 - 30	17 ¹	9	-	36	2 ²
Pipéracilline-tazobactam	45 (48)	100 + 10	22	15 - 28	8	30	1	9	-
Cefalosporines 3e generatie									
Cefotaxime	4 (8)	30	20	18 - 21	2	3	-	3	-
Ceftazidime	45 (46)	30	22	15 - 32	36	8	-	2	-
Ceftriaxone	8 (8)	30	16,5	11 - 19	-	5	-	3	-
Cefepime	3 (3)	30	20	17 - 22	1	2	-	-	-
"Cefalosporine"	2 (2)	30	21	20 - 22	1	1	-	-	-
Chinolones									
Ciprofloxacin	33 (37)	10	26	20 - 40	31	3	-	3	-
Lévofoxacin	10 (11)	5	25,6	21 - 31	11	-	-	-	-
Moxifloxacin	3 (4)	5	29	25 - 29	4	-	-	-	-
Norfloxacin	2 (2)	10	15,5	13 - 18	1	1	-	-	-
Ofloxacin	7 (10)	10	24	22 - 27	8	2	-	-	-
"Chinolone"	2 (2)	10	26,5	21 - 32	2	-	-	-	-

¹ 1 laboratorium vermeldde dat het resultaat afhankelijk was van de gebruikte methode: "S" met Rosco en "R" met Phoenix; in routine antwoordt dit laboratorium geen amoxicilline-clavulaanzuur voor *A. baumannii*; indien er specifiek zou naar gevraagd worden, zou het labo in dit geval "R" antwoorden

² Dit betreft:

- 1 laboratorium dat geen finaal resultaat antwoordde
- 1 laboratorium dat vermeldde dat er geen CLSI-criteria bestaan voor amoxicilline-clavulaanzuur voor *A. baumannii*

De resultaten die met de E-test bekomen werden, zijn samengevat in onderstaande tabel.

Tabel 4.2.4. Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor staal M/4371 (*Acinetobacter baumannii*).

	Aantal resultaten	*	MIC (mg/l)											Resultaat		
			> 0,125	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	> 256	S	I	R
Ampicilline	1		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
Piperacilline - tazobactam	3		-	-	-	-	-	1	1	1	-	-	1	2	-	1
Cefalosporines																
Ceftazidime	3				1	1	1							3	-	-
Ceftriaxone	1									1				-	-	1
Chinolones																
Ciprofloxacin	3		1	1	1									2	1	1

* MIC-waarde niet vermeld.

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/2090 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Vitek 2					Vitek 2 compact					
	Finaal resultaat			Meest vermelde verdunning	Aantal labo's dat deze verdunning vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Finaal resultaat			Meest vermelde verdunning	Aantal labo's dat deze verdunning vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	
	S	I	R			S	I	R			*
Ampicilline	-	-	57	≥ 32	51 (57)	-	-	14	-	≥ 32	13 (14)
Amoxicilline-clavulaanzuur	-	3	54	16	31 (57)	-	-	13	1 ¹	16	6 (14)
Piperacilline-tazobactam	13	41	3	32	22 (57)	3	11	-	-	16,32 en 64	4 (14)
Cefalosporines 3e generatie											
Cefotaxime	-	2	20	32 en ≥ 64	10 (22)	-	-	8	-	32	5 (8)
Cefpodoxime	-	-	1	-	- (1)	-	-	-	-	-	-
Ceftazidime	2	33	-	16	31 (35)	-	5	-	-	16	5 (5)
Ceftriaxone	-	-	-	-	-	-	-	1	-	≥ 64	-
Cefepime	-	2	1	16	2 (2)	-	-	-	-	-	1 (1)
«Cefalosporine»	-	4	-	16	3 (4)	-	-	1	-	-	-
Chinolones											
Ciprofloxacin	41	3	-	1	38 (44)	8	4	-	-	1	- (1)
Levofloxacin	8	-	-	1	8 (8)	1	-	-	-	-	11 (12)
Norfloxacin	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	- (1)
Ofloxacin	3	-	-	1	2 (3)	1	1	-	-	1	1 (2)
«Chinolone»	3	1	1	1	4 (5)	-	-	-	-	-	-

¹ 1 laboratorium vermeldde dat amoxicilline-clavulaanzuur therapeutisch geen optie is voor *A. baumannii*

In de meeste gevallen is de 'meest vermelde verdunning' de enige die vermeld werd door de deelnemers; een aantal laboratoria vermeldden immers de gevonden verdunning niet. Uiteraard waren er laboratoria die een andere verdunning antwoordden:

- voor ampicilline vond 1 laboratorium een verdunning > 256 mg/l met Vitek2
- voor amoxicilline vonden met Vitek 2, 7 laboratoria een verdunning van 4 mg/l, 12 een verdunning van 8 mg/l en 1 een verdunning van 32 mg/l; met Vitek 2 compact vonden 5 laboratoria een verdunning van 4 mg/l en 2 een verdunning van 8 mg/l
- voor piperacilline-tazobactam vond 1 laboratorium een verdunning van 8 mg/l met Vitek 2, 15 vonden een verdunning van 16 mg/l, 13 een verdunning van 64 mg/l en 1 een verdunning ≥ 128 mg/l; met Vitek 2 compact vond 1 laboratorium een verdunning van 8 mg/l
- voor cefotaxime vond 1 deelnemer een verdunning van 16 mg/l met Vitek 2 en 3 een verdunning ≥ 64 mg/l met Vitek 2 compact
- voor ceftazidime vonden 2 deelnemers een verdunning van 8 mg/l met Vitek 2
- voor ciprofloxacin vonden 2 deelnemers met Vitek 2 en 1 deelnemer met Vitek 2 compact een verdunning van 2 mg/l

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/4371 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Ampicilline	-	-	8
Amoxicilline-clavulaanzuur	-	6	4
Piperacilline-tazobactam	8	1	1
Cefalosporines 3e generatie			
Cefotaxime	2	2	-
Ceftazidime	5	-	-
Cefepime	-	-	1
"Cefalosporine"	-	-	1
Chinolones			
Ciprofloxacin	9	1	-
"Chinolone"	1	-	-

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.2.7.

Tabel 4.2.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/4371 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibioticum	Resultaat			Meest vermelde verdunning	Aantal labo's dat deze verdunning vermelde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Ampicilline	-	-	8	≥16	7 (8)
Amoxicilline-clavulaanzuur	-	1	7 ¹	> 16/8	6 (7)
Piperacilline-tazobactam	7	1	-	16/4	6 (8)
Cefalosporines 3e generatie					
Ceftazidime	5	-	-	8	3 (5)
Ceftriaxone	-	3	-	16	2 (3)
"Cefalosporine"	1	-	-	8	1 (1)
Chinolones					
Ciprofloxacin	4	-	-	≤ 0.5	4 (5)
Levofloxacin	2	-	-	≤ 1	2 (2)
"Chinolone"	1	-	-	≤ 0.125	1 (1)

¹ 1 laboratorium dat vermelde dat het resultaat afhankelijk was van de gebruikte methode: "S" met Rosco en "R" met Phoenix; in routine antwoordt dit laboratorium geen amoxicilline-clavulaanzuur voor *A. baumannii*; indien er specifiek zou naar gevraagd worden, zou het labo in dit geval "R" antwoorden.

Tevens vermeldde 1 laboratorium een waarde van 4 mg/l voor ceftazidime en 1 laboratorium een waarde van 32 mg/l voor ceftriaxone.

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 (of te weinig gebruikers die een kwantitatief resultaat antwoorden) 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/4371 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Ampicilline	-	-	6
Amoxicilline-clavulaanzuur	-	3	4
Piperacilline-tazobactam	2	4	1
Cefalosporines 3e generatie			
Ceftazidime	4	1	-
Ceftriaxone	-	3	-
Cefepime	1	-	1
Chinolones			
Ciprofloxacin	4	-	-
Levofloxacin	2	-	-
Norfloxacin	-	-	1
Ofloxacin	2	-	-

Tabel 4.2.9. Resultaten bekomen met de Sirscan voor staal M/4371 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Ampicilline	-	-	3
Amoxicilline-clavulaanzuur	1	1	3
Piperacilline-tazobactam	2	2	1
Cefalosporines 3e generatie			
Ceftazidime	3	2	-
Ceftriaxone	-	2	-
Chinolones			
Ciprofloxacin	1	1	-
Levofloxacin	3	-	-

Tot slot dient vermeld dat :

- 1 laboratorium vermeldde dat *A. baumannii* een natuurlijke resistentie vertoont tegen ampicilline en amoxicilline-clavulaanzuur en het deze antibiotica derhalve niet getest heeft; tevens was er voor beide antibiotica telkens 1 laboratorium dat dezelfde opmerking verstrekte
- 1 laboratorium niet vermeldde welke techniek het gebruikt heeft ter bepaling van de gevoeligheid

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:

- Ampicilline:
 - ♣ I → R
 - Vitek 2: 1 labo
- Amoxicilline-clavulaanzuur
 - ♣ S → I
 - Vitek 2: 1 labo
 - ♣ S → R
 - Papieren schijfjes: 1 labo
 - Rosco: 8 labos
 - Vitek 2: 20 labos
 - Vitek 2 compact: 5 labo's
 - ♣ I → R
 - Papieren schijfjes: 2 labo's
 - Rosco: 15 labo's
 - Vitek 2: 30 labo's
 - Vitek 2 compact: 3 labo's
 - ATB: 2 labo's
 - Osiris: 1 labo
 - Sirscan: 1 labo
- Piperacilline-tazobactam:
 - ♣ S → I
 - Rosco: 1 labo
 - Vitek 2: 5 labo's
 - ♣ I → I/R
 - Rosco: 1 labo
 - ♣ I → R
 - Rosco: 1 labo
 - Vitek 2: 2 labo's
- Cefotaxime
 - ♣ I → R
 - Vitek 2: 9 labo's
 - Vitek 2 compact: 2 labo's
- Ceftazidime
 - ♣ S → I
 - Rosco: 1 labo
 - ♣ S → R
 - Papieren schijfjes: 1 labo
- "Cefalosporine"
 - ♣ S → I
 - Vitek 2: 1 labo
- Ciprofloxacin
 - ♣ S → I
 - Vitek 2: 1 labo

- Ofloxacin
 - ♣ S→I
 - Vitek 2 compact: 1 labo
- "Chinolone"
 - ♣ S→I
 - Vitek 2: 1 labo

Nota: om reden van vereenvoudiging van bovenstaand overzicht zijn hierin enkel deze laboratoria opgenomen die een "klasse-wijziging" rapporteerden (vb. S→R) en niet deze die een wijziging naar een commentaar (vb. verwijziging naar een andere techniek, niet antwoorden van finaal resultaat, verwijziging naar synergie,...) vermeldden.

V. PARASITOLOGIE

5.1. De monsters

Ter gelegenheid van deze enquête werden 2 bloeditstrijkjes verzonden.
De stalen waren vergezeld van volgende klinische informatie:

Staal P/6609:

«24-jarige Kameroenese vluchteling met zwelling linkeroog»

Staal P/6945:

«Een man van 68 jaar heeft in april 2005 een reis gemaakt naar de Filippijnen zonder profylaxis en heeft daar een *P. falciparum* malaria opgelopen. Diagnose en behandeling met malarone® in België. Nu (2006) vertoont hij koorts een week na terugkeer van een reis naar Egypte. Voor zijn reis naar Egypte nam hij geen profylaxis.»

Staal P/6609 bevatte microfilaria van *Loa loa*.

Staal P/6945 bevatte trofozoïeten van *Plasmodium vivax*.

Voor staal P/6609 hebben 190 laboratoria een antwoord ingestuurd; voor staal P/6945 hebben 189 laboratoria dit gedaan.

Het aantal toolkit gebruikers bedroeg 56%. 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,...

Wij wensen ook te benadrukken dat, wanneer u verschillende evolutiestadia van eenzelfde parasiet waarneemt in een staal, u deze in de voorziene vakjes van het antwoordformulier of toolkit kan antwoorden; indien u meer dan 3 verschillende parasieten of evolutiestadia vast stelt, mag u de bijkomende in de vrije tekst vermelden.

Wij willen eveneens herhalen dat u, in geval van twijfel of beschadiging van een staal, steeds een 2^e staal mag vragen.

5.2. Resultaten

5.2.1 Staal P/6609

De 190 laboratoria leverden 190 antwoorden in. 12 laboratoria antwoordden «afwezigheid van parasieten» en 178 laboratoria antwoordden één parasiet.

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.2.1.1. Resultaten voor staal P/6609

Resultaat	Aantal
<i>Loa loa</i>	157
Afwezigheid van parasieten	12
<i>Onchocerca volvulus</i>	7
<i>Mansonella perstans</i>	6
<i>Echinococcus multilocularis</i>	3
<i>Plasmodium vivax</i>	2
<i>Wuchereria bancrofti</i>	2
<i>Hymenolepis nana</i>	1
Totaal	190

De beide laboratoria die *P. vivax* geantwoord hebben, hebben vermoedelijk beide stalen verwisseld; enkele andere laboratoria hebben wellicht oudere codes gebruikt; wij wensen te benadrukken dat men steeds de meest recente codes moet gebruiken; in geval men hier niet meer over beschikt, kan men steeds een nieuw exemplaar aanvragen; tevens staan deze codes op onze website op de pagina:

http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/nl/parasitologie.htm

en vervolgens klikt men op «codes». Het gebruik van de toolkit vermijdt dit probleem aangezien men hier de naam en evolutiestadia van de parasiet kan kiezen uit een aflopende lijst.

Het valt op te merken dat 5 laboratoria expliciet vermeld hebben dat zij een zekere twijfel hebben over de identificatie en dat ze in routine dit staal zouden doorsturen naar een expert voor bevestiging; drie van deze laboratoria hebben *Loa loa* geantwoord, 1 *Wuchereria bancrofti* en 1 *Onchocerca volvulus*. Tevens zijn er 3 laboratoria die vermelden geen parasiet waargenomen te hebben, maar op basis van de kliniek een filariase vermoeden.

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Loa loa* worden in volgende tabel weergegeven. Eén laboratorium heeft 2 verschillende evolutiestadia geantwoord.

Tabel 5.2.1.2. Evolutiestadia voor *Loa loa* voor staal P/6609

Evolutiestadium	Aantal labo's
Microfilaria	142
Volwassen vorm	10
Larve	5
Niet gepreciseerd	1
Totaal	158

Niet alle laboratoria vermeldden het aantal waargenomen parasieten. Het aantal waargenomen parasieten voor *Loa loa* in staal P/6609 wordt weergegeven in tabel 5.2.1.3.

Tabel 5.2.1.3. Mediaan, minimum en maximum voor *Loa loa* voor staal P/6609 (uitgedrukt in aantal per plaatje).

Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
140	2	1	15

Tevens antwoordden 8 laboratoria 1 à 2, 4 antwoordden 2 à 3, 4 antwoordden 3 à 4; 1 laboratorium antwoordde «veel» en 1 gaf geen aantal weer.

5.2.2 Staal P/6945

De 189 laboratoria hebben 204 parasieten geantwoord. 174 laboratoria antwoordden één parasiet en 15 antwoordden 2 parasieten. De parasieten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.2.2.1. Antwoorden voor staal P/6945

Parasiet	Aantal
<i>Plasmodium vivax</i>	142
<i>Plasmodium falciparum</i>	23
<i>Plasmodium species</i>	14
<i>Plasmodium non-falciparum</i>	8
<i>Plasmodium malariae</i>	7
<i>Plasmodium ovale</i>	4
<i>Loa loa</i>	2
<i>Pentatrachomonas hominis</i>	2
<i>Naegleria fowleri</i>	1
<i>Leishmania tropica complex</i>	1
Totaal	204

De beide laboratoria die *Loa loa* geantwoord hebben, hebben vermoedelijk beide stalen verwisseld; enkele andere laboratoria hebben wellicht oudere codes gebruikt.

Zeven laboratoria die *Plasmodium species* antwoordden en 4 die *P. non-falciparum* geantwoord hebben, geven in een opmerking aan dat het vermoedelijk een *P. vivax* is, doch dat bevestiging noodzakelijk is; tevens vermeldde telkens 1 laboratorium, dat *Plasmodium species* geantwoord heeft, dat het vermoedelijk een *P. vivax* + *P. falciparum*, *P. ovale* of *P. malariae* betreft.

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Plasmodium vivax* worden in tabel 5.2.2.2. weergegeven. 16 laboratoria hebben 1 evolutiestadium geantwoord, 29 laboratoria hebben 2 evolutiestadia geantwoord, 81 laboratoria hebben 3 evolutiestadia geantwoord en 16 hebben 4 evolutiestadia geantwoord.

Tabel 5.2.2.2. Evolutiestadia voor *Plasmodium vivax* voor staal P/6945

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Trofozoïet	132
Gametocyt	102
Rijpe of oudere schizont	72
Jonge schizont	69
Schizont *	5
Niet gepreciseerd	1
Totaal	381

* Enkele laboratoria hebben geen onderscheid gemaakt tussen oude en jonge schizonten maar antwoordden 'schizont'.

De combinaties van evolutiestadia voor *Plasmodium vivax* worden in tabellen 5.2.2.3. tot en met 5.2.2.6. weergegeven.

Tabel 5.2.2.3. Laboratoria die 1 evolutiestadium voor *Plasmodium vivax* voor staal P/6945 geantwoord hebben.

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Trofozoïet	11
Gametocyt	2
Rijpe of oudere schizont	2
Niet gepreciseerd	1
Totaal	16

Tabel 5.2.2.4. Combinatie van 2 evolutiestadia voor *Plasmodium vivax* voor staal P/6945

Combinatie van evolutiestadium	Aantal
Gametocyt + trofozoïet	16
Trofozoïet + rijpe of oudere schizont	8
Gametocyt + jonge schizont	1
Gametocyt + rijpe of oudere schizont	1
Jonge schizont + rijpe of oudere schizont	1
Jonge schizont + trofozoïet	1
Schizont + trofozoïet	1
Totaal	29

Tabel 5.2.2.5. Combinatie van 3 evolutiestadia voor *Plasmodium vivax* voor staal P/6945.

Combinatie van evolutiestadium	Aantal
Gametocyt + jonge schizont + trofozoïet	33
Gametocyt + oudere schizont + trofozoïet	27
Jonge schizont + oudere schizont + trofozoïet	15
Gametocyt + schizont + trofozoïet	4
Gametocyt + jonge schizont + oudere schizont	2
Totaal	81

Tabel 5.2.2.6. Combinatie van 4 evolutiestadia voor *Plasmodium vivax* voor staal P/6945.

Combinatie van evolutiestadium	Aantal
Gametocyt + jonge schizont + oudere schizont + trofozoïet	16
Totaal	16

Voor *Plasmodium non-falciparum* heeft 1 laboratorium 1 evolutiestadium geantwoord, hebben 2 laboratoria 2 evolutiestadia geantwoord, heeft 1 laboratorium 3 evolutiestadia geantwoord en hebben 4 laboratoria 4 evolutiestadia geantwoord. Voor *Plasmodium species* hebben 3 laboratoria 1 evolutiestadium geantwoord, 2 hebben 2 stadia geantwoord en 9 hebben 3 stadia geantwoord. Een overzicht van deze stadia wordt gegeven in tabellen 5.2.2.7 en 5.2.2.8.

Tabel 5.2.2.7. Evolutiestadia voor *Plasmodium non-falciparum* voor staal P/6945

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Trofozoïet	7
Gametocyt	7
Rijpe of oudere schizont	6
Jonge schizont	4
Totaal	24

Tabel 5.2.2.8. Evolutiestadia voor *Plasmodium species* voor staal P/6945

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Trofozoïet	14
Jonge schizont	9
Gametocyt	8
Rijpe of oudere schizont	3
Totaal	34

Niet alle laboratoria vermeldden het aantal waargenomen parasieten. Voor *Plasmodium vivax* geven we voor elk evolutiestadium de aantallen van de meest gebruikte eenheid weer in tabellen 5.2.2.9. tot en met 5.2.2.12.

Tabel 5.2.2.9. Mediaan, minimum en maximum voor trofozoïet voor *Plasmodium vivax* voor staal P/6945 (uitgedrukt in ‰).

Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
106	9	1	100

Tevens antwoordden 4 laboratoria <1, 2 laboratoria 1 à 2, 2 antwoordden 2 à 3, 3 antwoordden 3 à 4 en 10 antwoordden 5 à 10; 1 antwoordde «veel» en 4 gaven geen aantal weer.

Tabel 5.2.2.10. Mediaan, minimum en maximum voor gametocyt voor *Plasmodium vivax* voor staal P/6945 (uitgedrukt in ‰).

Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
65	3	1	50

Tevens antwoordden 9 laboratoria <1, 5 laboratoria 1 à 2, 6 antwoordden 2 à 3, 4 antwoordden 3 à 4 en 1 antwoordde 5 à 10; 10 gaven geen aantal weer.

Tabel 5.2.2.11. Mediaan, minimum en maximum voor jonge schizont voor *Plasmodium vivax* voor staal P/6945 (uitgedrukt in ‰).

Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
39	3	1	30

Tevens antwoordden 14 laboratoria <1, 3 laboratoria 1 à 2, 4 antwoordden 2 à 3, 2 antwoordden 3 à 4 en 2 antwoordden 5 à 10; 5 gaven geen aantal weer.

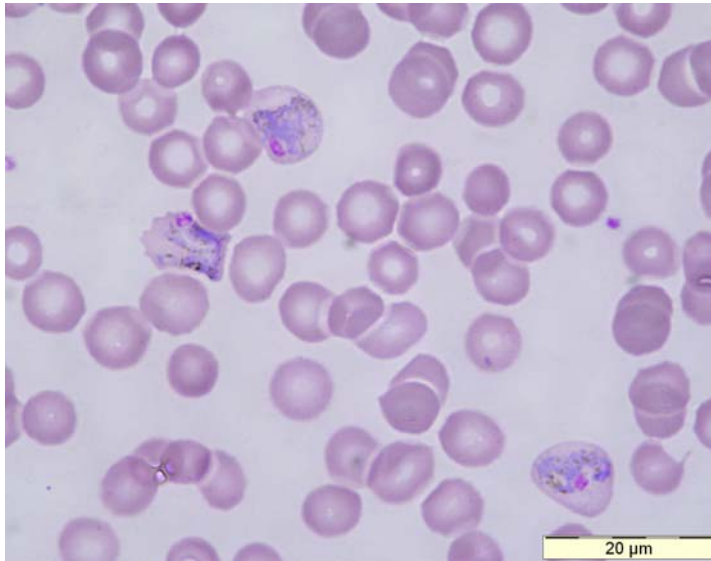
Tabel 5.2.2.12. Mediaan, minimum en maximum voor oude schizont voor *Plasmodium vivax* voor staal P/6945 (uitgedrukt in ‰)

Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
43	5	1	50

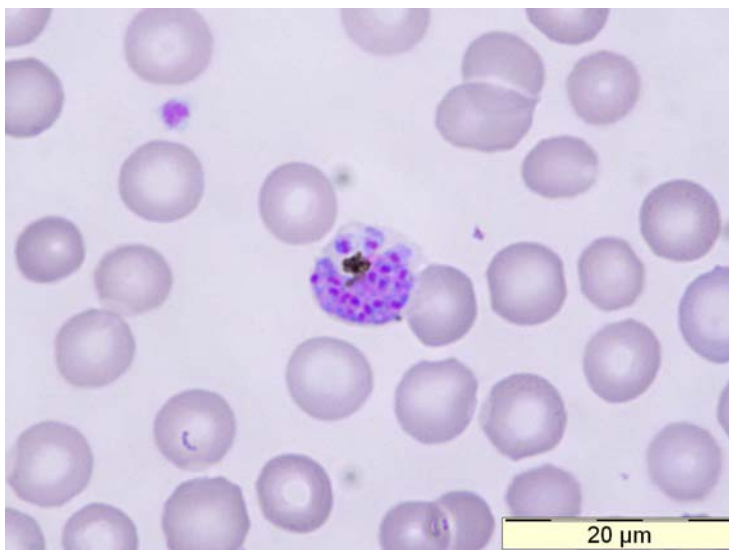
Tevens antwoordden 13 laboratoria <1, 1 laboratorium 1 à 2, 3 antwoordden 2 à 3 en 3 antwoordden 5 à 10; 9 gaven geen aantal weer.

5.3. Commentaar op de resultaten van de enquête 2006/3 parasitologie

Wij verwijzen voor *Loa loa* eveneens naar het globale rapport 2003/1 en voor *P. vivax* naar het globale rapport 2005/2.

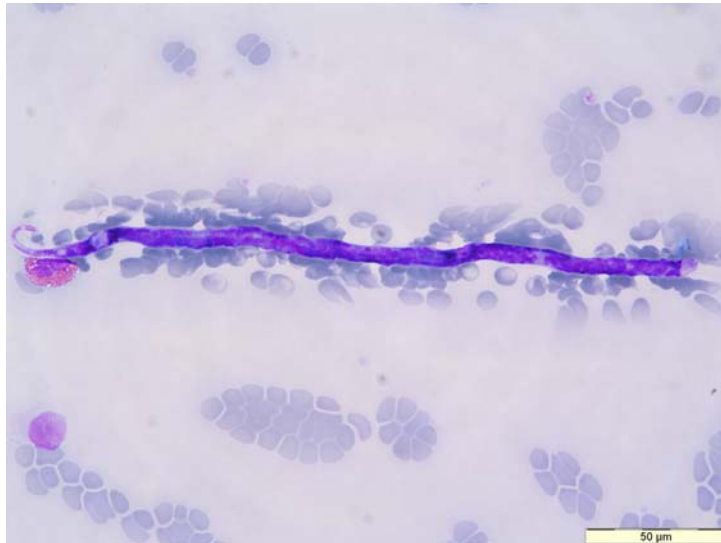


Plasmodium vivax P/6945: drie volgroeide amoëboïde trofozoïeten. De geparasiteerde rode bloedcellen zijn vergroot (gekleurd met May Grünwald Giemsa).



Plasmodium vivax P/6945: typische schizont met 19 merozoïeten en zwart pigment verzameld in één massa. De schizont van *P. vivax* bevat 12-24 deeltkernen (merozoïeten) en vult de volledige rode bloedcel (gekleurd met May Grünwald Giemsa).

Er is een sterk vermoeden dat de patiënt zijn *P. vivax* infectie niet in Egypte, maar wel reeds in de Filippijnen opgelopen heeft. De aanwezigheid van *P. vivax* werd bevestigd door PCR, uitgevoerd in het UZ Gasthuisberg te Leuven.



Loa loa P/6609: de microfilaire vertoont een niet gekleurde schede en kernen tot in het staartuiteinde (gekleurd met May Grünwald Giemsa).



Loa loa P/6609: een uitvergroting van het vorige plaatje toont duidelijk de kernen tot in het staartuiteinde (gekleurd met May Grünwald Giemsa).

REFERENTIES

1. Wilcox A. 1960. Manual for the Microscopical Diagnosis of Malaria in Man. U.S. Department of Health, Education and Welfare, Washington D.C.

VI. SEROLOGIE

6.1 Beschrijving van de monsters

Er werden 3 stalen rondgestuurd.

Er was 1 gelyofiliseerd plasmamonster, S/1195 waarop antistoffen tegen Mycoplasma bepaald dienden te worden.

Het staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:
« Patiënt met respiratoire infectie.»

De verwachte interpretatie was: «Afwezigheid van antistoffen.»

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

Staal S/6979 was positief.

Staal S/6530 was negatief.

6.2 Mycoplasma

6.2.1. De deelnemers

163 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 281 testen uit op staal S/1195.

52 laboratoria voerden 1 test uit, 104 laboratoria voerden 2 testen uit en 7 laboratoria 3 testen. Eén laboratorium dat 2 maal dezelfde test (zelfde kit) uitvoerde met hetzelfde resultaat (kwalitatief en kwantitatief) werd gerangschikt onder de laboratoria die 1 test uitvoerden.

De volgende tabellen 6.2.1. tot en met 6.2.3. geven een overzicht van de types van testen welke uitgevoerd werden.

Nota: met testen die tussen haakjes geplaatst worden in onderstaande tabellen (vb. (IgG+M)) worden deze kits bedoeld die deze beide As samen bepalen.

Tabel 6.2.1. Type testen uitgevoerd door de laboratoria die 1 test uitvoerden

Type test	Aantal laboratoria
(IgG + M)	37
IgM	15
Totaal	52

Tabel 6.2.2. Type testen uitgevoerd door de laboratoria die 2 testen uitvoerden

Type test	Aantal laboratoria
IgG en IgM	60
(IgG+M) en IgM	36
IgM en IgA	3
(IgG+M) en (IgM+A)	2
IgG en IgA	1
(IgG+M) en IgA	1
2 x (IgG+M)	1
Totaal	104

Tabel 6.2.3. Type testen uitgevoerd door de laboratoria die 3 testen uitvoerden

Type test	Aantal laboratoria
IgG en IgM en IgA	3
(IgG+M) en IgG en IgM	2
(IgG+M) en IgG en IgA	1
IgG en 2 x IgM	1
Totaal	7

6.2.2. Gebruikte reagentia

Volgende tabellen geven in aantal weer welke reagentia door de deelnemers gebruikt werden.

Tabel 6.2.4. Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-Mycoplasma (IgG+M) voor staal S/1195

Fabrikant	Reagens	S/1195
Fujirebio	Serodia-Myco II	76
Virion/Serion (verdelers Medigal)	Mycoplasma pneumoniae complement fixatie	5
Totaal		81

Tabel 6.2.5. Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-Mycoplasma IgG voor staal S/1195

Fabrikant	Reagens	S/1195
Alphadia	Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa	2
Biorad	Platelia M. pneumoniae IgG	3
Biotest	Anti-Mycoplasma IgG Elisa	5
BMD	IgG	2
BMD/Genbio	Mycoplasma IgG EIA	5
Dade Behring	Novagnost Mycoplasma pneumoniae IgG	2
Diasorin	ETI-MP IgG Elisa	5
Euroimmun (verdelers Biognost)	Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa	18
Medac	Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa	5
Meridian	Premier Mycoplasma IgG	1
Savyon Diagnostics (Diasorin)	SeroMP IgG	10
Virion/Serion (verdelers Medigal)	Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa	9
Virotech	Mycoplasma pneumoniae Elisa IgG	1
Totaal		68

Tabel 6.2.6. Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-Mycoplasma IgM voor staal S/1195

Fabrikant	Reagens	S/1195
Alphadia	Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa	2
Biorad	Platelia M. pneumoniae IgM	3
Biotest	Anti-Mycoplasma IgM Elisa	6
	vir Elisa anti-mycoplasm IgM	1
BMD	IgM	2
BMD/Genbio	Mycoplasma IgM EIA	6
Dade Behring	Novagnost Mycoplasma pneumoniae IgM	2
Diasorin	ETI-MP IgM Elisa	5
Euroimmun (verdeler Biognost)	Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa	18
Hycor Biomedical	Mycoplasma pneumoniae IgM ELISA	1
Medac	Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa	8
Meridian	Immunocard Mycoplasma Premier Mycoplasma IgM	41 2
Savyon Diagnostics (Diasorin)	SeroMP IgM	11
Virion/Serion (verdeler Medigal)	Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa	12
Virotech	Mycoplasma pneumoniae Elisa IgM	1
Totaal		121

Tabel 6.2.7. Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-Mycoplasma IgA voor staal S/1195

Fabrikant	Reagens	S/1195
Euroimmun (verdeler Biognost)	Mycoplasma pneumoniae IgA Elisa	2
Medac	Mycoplasma pneumoniae IgA Elisa	7
Totaal		9

Tabel 6.2.8. Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-Mycoplasma (IgM+A) voor staal S/1195

Fabrikant	Reagens	S/1195
Diagnosis systems/Julio Moran Laboratories (Biognost)	Diacheck Mycoplasma pneumoniae IgM/IgA Elisa	2
Totaal		2

6.2.3. Resultaten

6.2.3.1 Resultaten van de testen

6.2.3.1.1 (IgG+M)

De resultaten van de laboratoria die (IgG+M) bepaalden worden weergegeven in tabel 6.2.9.

Tabel 6.2.9. Resultaten bekomen door de laboratoria voor anti-Mykoplasma (IgG+IgM) voor staal S/1195

Resultaten	Aantal laboratoria
Negatief	78
Borderline	1
Borderline/Negatief*	1
Totaal	80

* 1 laboratorium bepaalde deze As met 2 verschillende kits en bekwam 2 verschillende resultaten

6.2.3.1.2 IgG

65 laboratoria bekwamen een negatief resultaat; 3 bekwamen een borderline resultaat.

6.2.3.1.3 IgM

Alle 120 laboratoria bekwamen een negatief resultaat; het laboratorium dat deze test met 2 verschillende reagentia bepaalde, bekwam 2 maal een negatief resultaat.

6.2.3.1.4 IgA

7 laboratoria bekwamen een negatief resultaat; 2 bekwamen een positief resultaat.

6.2.3.1.5 (IgM + A)

Beide laboratoria bekwamen een negatief resultaat.

6.2.3.2 Interpretatie

De interpretaties worden weergegeven in onderstaande tabel 6.2.10.

Tabel 6.2.10. Interpretaties van de laboratoria voor Mycoplasma voor staal S/1195

Interpretatie	Aantal laboratoria
Afwezigheid van antistoffen	150
Afwezigheid van IgM antistoffen ¹	5
Op 1 monster met complement bindingsreactie geen uitspraak mogelijk over recente infectie	1
IgM afwezig; IgG controle op nieuwe afname wenselijk	2
IgM afwezig; IgG zwakjes vermoedelijk niet significant	1
Aanwezigheid van antistoffen	4
Totaal	163

¹ Dit antwoord werd gegeven door laboratoria die enkel de IgM bepaald hebben

De 4 antwoorden «Aanwezigheid van antistoffen» werden gegeven door de beide laboratoria die IgA positief vonden (en (IgG+M) negatief), het labo dat (IgG+M) zowel negatief als borderline vond en door een laboratorium dat zowel (IgG+M) als IgA negatief vond.

De beide laboratoria die een controle van IgG voorstellen, vonden IgG borderline (en IgM negatief). Het laboratorium dat een zwakke IgG als niet significant bestempelde vond IgM negatief met 2 technieken en antwoordde IgG eveneens als negatief.

We dienen nog op te merken dat 1 laboratorium vermeldde dat voor een goede interpretatie ook de leeftijd van de patiënt belangrijk kan zijn.

6.2.4. Serologische testen voor *M.pneumoniae*

6.2.4.1. Algemeen

Het belangrijkste criterium voor een positieve serologische test is seroconversie of een viervoudige stijging van de IgG antistoftiter optredend gedurende het ziekteverloop. Daarvoor worden twee serummonsters onderzocht, verkregen met een tussenpoos van 2-3 weken. Gezien IgM antistoffen klassiek vroeger verschijnen dan IgG antistoffen wordt hun detectie veelvuldig toegepast voor een vroegtijdige serologische diagnose van een acute infectie. Hierbij moet worden opgemerkt dat kinderen jonger dan 6 maanden meestal geen IgM antistoffen produceren, dat IgM antilichamen in een gedeelte van de primaire infecties en bij re-infecties niet steeds verschijnen, dat de IgM productie afneemt bij ouderen en dat ze ook laatijdig kunnen verschijnen. Een éénmalige hoge IgG antistoftiter heeft voor een acute infectie geen enkele diagnostische betekenis gezien het ogenblik van de seroconversie onbekend is en noodzakelijk optrad enkele tijd voor de bestaande ziekte startte. Hoge antistoftiters, waarvoor dan nog een drempelwaarde op basis van locale evaluaties dient bepaald te worden, zijn alleen nuttig voor prevalentiestudies in bevolkingsgroepen.

De klinische betekenis voor IgM en IgG dient bepaald te worden door studies bij patiënten met een gedocumenteerde infectie, bvb een gevalideerde PCR uitgevoerd met de nodige controles, en waarbij nauwkeurige gegevens bekend zijn over het tijdsverloop tussen het begin van de aandoening en de serumbemonsteringen. Dergelijke studies over IgA zijn er niet tot op heden.

De bijgevoegde tabel toont resultaten van serologische testen bij gedocumenteerde *Mycoplasma pneumoniae* infecties. Hierbij vallen de lage incidentie van IgM antistoffen op in de acute fase sera en het belang van de tijd verlopen tussen de twee geteste serummonsters om een titer stijging te zien.

Referentie	Antigeen test	Type	Tijdsverloop	Resultaten	%
2	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> Agglutinatie	IgM + IgG	acute fase conv fase	6/12 pos 9/12 pos	50 66
3	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> CFT	IgM + IgG	7 - 22 dagen	alle 15 met titerstijging bevestigd door PCR 5/9 met blijvend hoge titer bevestigd door PCR	
4	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> EIA 11 antigenen	IgM IgG	1 - 6 dagen 7 - 15 dagen 1 - 6 dagen 3 - 4 weken	Afhankelijk van test " " "	7 - 25 31 - 69 14 - 80 > 85 %
5	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> EIA 4 antigenen	IgM IgG	1 - 6 dagen ≥ 16 dagen 3 - 4 weken		10 - 31 20 - 42 10 - 68

CFT : Complement Fixatie Test

De gevoeligheid en de specificiteit van de serologische testen hangen af van de gebruikte antigenen. Voor *M. pneumoniae* zijn zeer veel verschillende antigeenpreparaten in de handel. Beersma e.a. (4) bepaalden de gevoeligheid en specificiteit van 12 EIA serologische testen en de CFT voor de bepaling van *M. pneumoniae* anti-IgM en -IgG bij 27 *M. pneumoniae* PCR positieve patiënten voor wie ook het begin van de ziekte gekend was. Bijgevoegde tabel geeft de belangrijkste resultaten weer.

Diagnostische gevoeligheid en specificiteit van de verschillende *M. pneumoniae* IgM en IgG testen

	Specificiteit %		Gevoeligheid %		
	IgM		IgM		IgG
	Controle sera (n = 96)	Acute fase (n = 19)	Convalescente fase (n = 19)	Acute fase (n = 19)	Convalescente fase (n = 19)
AniLabsystems	92	42	84	89	100
Biotest	95	26	53	89	100
CFT	97	32	79		
Diagnosys	94	32	68	74	89
ImmunoCard	79	33	44		
ImmunoWell	96	16	37	42	83
Novum	49	42	79	58	90
Platelia	98	32	47	79	95
Ridascreen	100	21	32	42	85
Serion classic	95	21	53	53	95
SerodiaMycoII	88	37	79		
SeroMP	88	37	79	37	85
Virotech	96	16	53	42	90

19 dubbele serummonsters + 8 enkelvoudige sera, waarvan 3 afgenomen <7d na begin van de ziekte, bij 27 PCR positieve patiënten. Leeftijd 7-48 jaar, mediaan 43j, 2 patiënten jonger dan 20j. Interval tussen acute en convalescente monsters 7-48 dagen, gemiddeld 15.8 dagen

De besluiten van deze studie zijn:

1. IgM is afwezig in 80% van de gevallen tijdens de eerste week van de ziekte.
2. Alle geteste systemen zijn specifiek voor IgM behalve Novum en Immunocard.
3. De gevoeligheid van IgM van alle systemen is laag, hoewel ze boven de 75% ligt voor AniLab, Novum (maar te weinig specifiek) Serodia MII, Sero MP en de CFT maar slechts laattijdig.
4. De meeste IgG testen zijn aanvaardbaar voor de detectie van een seroconversie.
5. Bepaling van IgM + IgG verhoogt de diagnostische waarde van de testen voor detectie van een seroconversie.
6. Verschillende testen tonen vals positieve resultaten bij EBV-IgM positieve sera

6.2.4.2. De Mycoplasma antistoffen enquête.

Het betreft een monster dat negatief was voor *M. pneumoniae* antistoffen. Er werden zeer verschillende combinaties van testen uitgevoerd zoals blijkt uit de tabellen 6.2.1., 6.2.2. en 6.2.3.

Zoals hoger vermeld laat de IgG+M test toe meer seroconversies op te sporen.

Voor het opsporen van IgA zijn voorlopig niet voldoende argumenten voorhanden.

Niet alleen werden verschillende parameters of combinaties van verschillende parameters gebruikt; er was ook een grote variatie aan gebruikte reagentia zowel voor de bepaling van IgM als van IgG antistoffen zoals blijkt uit de tabellen 6.2.5 en 6.2.6.

Wat de interpretatie van de resultaten betreft: indien de borderline resultaten als negatief worden beschouwd zijn de resultaten van alle laboratoria met alle reagentia vergelijkbaar en negatief. Alleen voor IgA zijn er tegenstrijdigheden.

De meerderheid van de laboratoria bekwam dus het verwachte resultaat en gaf een correcte klinische interpretatie: 'afwezigheid van antistoffen'; deze interpretatie geldt indien IgM en IgG werden bepaald alhoewel de vermelding van de aard van de antistoffen voorkeur verdient. De andere interpretaties 'geen uitspraak mogelijk op 1 monster met KBR (komplementbindingsreactie) over recente infectie', 'IgM afwezig; IgG controle op nieuwe afname wenselijk' zijn eveneens correct: vooral wegens de lage gevoeligheid van de meeste testen in het begin van de infectie is een tweede monster wenselijk. Slechts 4/163 laboratoria antwoordden 'aanwezigheid van antistoffen' waaronder 2 met positieve IgA resultaten en voor het gebruik van deze parameter zijn nog niet voldoende argumenten voorhanden.

6.2.4.3. Bespreking.

De negatieve resultaten op één enkel monster dat geen *M. pneumoniae* antistoffen bevatte liggen in de lijn van de gekende hoge specificiteit van de gebruikte testen. De resultaten geven natuurlijk geen inlichting over de gevoeligheid van de testen.

Deze oefening illustreert nogmaals, voor een correcte interpretatie van de resultaten, de noodzaak van een samenwerking tussen de verantwoordelijken voor de kliniek en die voor het laboratorium. De leeftijd van de patiënt, de tijd verlopen tussen het begin van de ziektesymptomen en de bloedafname, en resultaten van een tweede serummonster zijn onmisbare inlichtingen voor zinvolle interpretatie.

Wordt een lab geconfronteerd met een aanvraag voor *M. pneumoniae* antistoffen bepaling dan is de optimale strategie om nuttige informatie te verstrekken het bepalen van IgM en IgG (of IgM+IgG) om zowel een test voor een vroegtijdige diagnose, zij het een weinig gevoelige, uit te voeren, als een test die iets later positief wordt.

De epidemiologische informatie door het Instituut voor Volksgezondheid verzameld, vermeldt alle resultaten van positieve serologische testen voor *M. pneumoniae* wat ongetwijfeld een belangrijke overschatting oplevert van de incidentie van *M. pneumoniae* infecties. Beter ware afzonderlijk de 4-voudige titer stijgingen te melden zoals dat door de Britse CDR wordt gedaan voor influenzavirus infecties.

Greet Ieven, Universitair Ziekenhuis Antwerpen, Edegem

REFERENTIES

1. Templeton KE, Scheltinga SA, Graffelman AW, Van Schie JM, Crieland JW, Sillekens P, Van den Broek PJ, Goossens H, Beersma MF, Claas EC. Comparison and evaluation of real-time PCR, real-time nucleic acid sequence-based amplification, conventional PCR and serology for diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae*. J Clin Microbiol. 2003; 41: 4366-4371.
2. Rätty R, Rönkkö E, Kleemola M. Sample type is crucial to the diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia by PCR. J Med Microbiol 2005; 54: 287-291.
3. Beersma MFC, Dirven K, van Dam AP, Templeton KE, Claas ECJ, Goossens H. Evaluation of 12 Commercial Tests and the Complement Fixation Test for *Mycoplasma pneumoniae*-Specific Immunoglobulin G (IgG) and IgM Antibodies, with PCR Used as the «Gold Standard». J Clin Microbiol 2005; 43: 2277-2285.
4. K. Loens, D. Ursi, L. Daniëls, H. Goossens, and M. Ieven. Evaluation of 4 serological tests for the detection of *Mycoplasma pneumoniae* in patients with lower respiratory tract infections. 15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 02-04-05/04/2005, Copenhagen, Denmark. (oral presentation)

6.3 HIV

6.3.1. De deelnemers

In het totaal stuurden 186 laboratoria hun enquêteformulier terug. Meerdere laboratoria voerden meer dan één screeningstest uit per staal.

Onderstaande tabel geeft het aantal uitgevoerde screeningstesten per staal weer.

Tabel 6.3.1. Screeningstesten uitgevoerd voor de bepaling van HIV.

Staal	1 test	2 testen	Totaal
S/6530 (N labo's)	166	20	186
S/6979 (N labo's)	158	28	186

Daarnaast vermelden 12 deelnemers het resultaat van de Ag p24 test die zij bekwamen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit (die anti-HIV As en Ag p24 tegelijkertijd bepaalt) op staal S/6530. Op staal S/6979 doen 14 laboratoria dit; tevens hebben hierop 5 laboratoria het p24 Ag bepaald met de VIDAS HIV p24 II kit en hebben 2 laboratoria een confirmatietest uitgevoerd (met de GENELABS HIV 2.2 BLOT en de Inno-LIA HIV Confirmation).

6.3.2. Gebruikte reagentia

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

Tabel 6.3.2. Reagentia gebruikt voor de screeningstesten voor de bepaling van HIV.

Fabrikant	Reagents	S/6530	S/6979
Abbott	AxSYM HIV Ag/Ab Combo	45	45
	AxSYM HIV-1/2gO	21	21
	Architect HIV Ag/Ab Combo	18	18
	DETERMINE HIV 1/2	3	3
	Murex HIV-1.2.0.	2	2
	Murex HIV Ag/Ab	2	2
	IMx HIV-1/HIV-2 III PLUS	2	2
	PRISM HIV O Plus	2	2
Bayer	Centaur EHIV	13	13
	Centaur HIV	1	1
Behring	Enzygnost HIV Integral	3	3
	Enzygnost anti-HIV 1/2 PLUS	2	2
	Enzygnost HIV Integral II	1	1
bioMérieux	VIDAS HIV DUO ULTRA	24	30
	VIDAS HIV DUO QUICK	13	15
	Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab	2	2
	Vironostika HIV Uni-Form II Plus O	1	1
BioRad	Access HIV 1/2 New sur Access ¹	13	13
	Access HIV 1/2 New sur Unicel DxI 800 ¹	10	10
Biotest	HIV Tetra Kit	4	4
Ortho Diagnostics	VITROS Immunodiagnostic Products anti HIV 1+2	15	15
Roche	HIV Combi	9	9
Totaal		206	214

¹ 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.

6.3.3. Resultaten

6.3.3.1 Staal S/6530

Een overzicht van de resultaten per laboratorium wordt gegeven in tabel 6.3.3.

Tabel 6.3.3. Resultaten der laboratoria voor de screeningstesten voor de bepaling van HIV op staal S/6530.

Resultaat	Aantal laboratoria
Negatief ¹	180
Borderline/negatief ¹	3
Borderline	2
Positief	1
Totaal	186

¹ 16 van deze laboratoria bekwamen met 2 gebruikte technieken een negatief resultaat. Eén laboratorium bekwam een negatief resultaat met één screeningstechniek en een borderline met een andere techniek; aangezien het resultaat van de immunoblot die het laboratorium uitvoerde negatief was, was de slotconclusie van dit laboratorium: «negatief».

² 3 laboratoria bekwamen een negatief resultaat met één screeningstechniek en een borderline met een andere techniek.

Een kwantitatieve beoordeling van deze resultaten werd niet uitgevoerd, gezien het beperkte belang hiervan bij een negatief staal.

De zeven «niet-negatieve» resultaten werden allen bekomen met de AxSYM HIV-1/2g O kit (7/21 resultaten van de gebruikers van deze kit; de overige gebruikers antwoordden «negatief»). De firma Abbott werd hieromtrent gecontacteerd; U vindt hieronder een samenvatting van hun voornaamste bevindingen en conclusies:

«Returned sample S/6530 was tested with AxSYM HIV 1/2 gO reagent, lot numbers 44046LU00, 45131LU00 and 45523LU00, and generated negative results in all cases (44046LU00: 0.48 S/CO; 5131LU00: 0.40 S/CO and 45523LU00: 0.44 S/CO). Therefore the reactive/borderline results obtained by some customers could not be repeated.

After thaw the sample was turbid and could be clarified by centrifugation at 10,000 x g for 10 minutes (According Package Insert). Therefore, it is highly likely that the received potential false positive/borderline results were generated due to sample handling, which was not according to Package Insert. This is also supported by the fact that this sample was tested non-reactive also by the majority of other Belgian customers (14 out of 21 customers).

According to the Package Insert, each specimen that requires repeat testing or that has been frozen and thawed must be transferred to a centrifuge tube and centrifuged at a Relative Centrifugal Force (RCF) of at least 10,000 x g for 10 minutes. Transfer clarified specimen to a sample cup or secondary tube for testing.

If, after initial separation, specimens contain clots, red blood cells or particulate matter, then they must be clarified by centrifugation of at least 10,000 x g for 10 minutes prior to testing to avoid inconsistent results.

All specimens that are reactive on initial testing should be retested in duplicate after centrifugation at an RCF of at least 10,000 x g for 10 min. If neither of the retested results is reactive, the specimen must be considered negative for HIV-1 and/or HIV-2 antibodies. If either test is reactive, the sample must be considered repeatedly reactive for HIV-1 and/or HIV-2 antibodies by the criteria of AxSYM HIV 1/2 gO.»

De resultaten van de Ag p24 test die de laboratoria meedeelden waren allen negatief.

Vijf laboratoria zouden het staal in routine doorsturen naar een referentielaboratorium: het laboratorium met een positief resultaat, beide laboratoria die één enkele bepaling uitvoerden en een borderline resultaat bekwamen en 2 van de laboratoria met een borderline en negatief resultaat; het derde laboratorium met een dergelijk resultaat zou het staal niet doorsturen.

6.3.3.2 Staal S/6979

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat met de screeningstesten; laboratoria die 2 technieken gebruikten bekwamen een positief resultaat met beide technieken.

Voor de kits met een voldoende aantal gebruikers hebben wij mediaan, minimum en maximum berekend, voor zover de laboratoria een kwantitatief resultaat geantwoord hebben en in dezelfde eenheden gerapporteerd hebben. Deze resultaten worden weergegeven in tabel 6.3.4.

Tabel 6.3.4. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor anti-HIV antistoffen op staal S/6979 voor de meest gebruikte kits.

Kit	Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
Architect HIV Ag/Ab Combo (index S/CO)	18	177.73	89.28	241.67
AxSYM HIV Ag/Ab Combo (index S/CO)	45	39.28	25.00	51.90
AxSYM HIV-1/2g O (index S/CO)	21	10.70	6.82	38.92
Centaur EHIV (index)	13	35.91	28.80	48.50
VIDAS HIV DUO QUICK (index)	13	20.68	16.22	26.37
VIDAS HIV DUO ULTRA (index)	22	8.18	6.49	18.64
Access HIV 1/2 new sur Access (index S/CO)	12	185.20	141.69	242.48
Access HIV 1/2 new sur Unicef DxI 800 (index S/CO)	10	184.80	77.20	222.12
VITROS immunodiagnostic products anti HIV 1+2 (index)	14	27.55	18.90	31.20
HIV Combi (index)	9	116.40	101.80	126.20

De laboratoria die het resultaat van de Ag p24 test op de VIDAS HIV DUO ULTRA kit antwoordden, gaven het antwoord «ND» «Not Determined» weer; navraag bij de firma bioMérieux leerde dat dit antwoord niet gelijk staat aan een negatief resultaat, maar dat het antwoord «ND» betekent dat de sterke reactie voor de As de bepaling van het Ag p24 kan belemmeren en een adequate conclusie over Ag p24 onmogelijk is en dit dus met een andere techniek bepaald dient te worden.

De resultaten van de VIDAS HIV p24 II waren allen positief met een waarde >400 pg/ml.

De resultaten van de GENELABS HIV 2.2 BLOT en de Inno-LIA HIV Confirmation waren beide positief.

183 laboratoria zouden in routine het staal doorsturen naar een Aids Referentie Laboratorium. De 3 laboratoria die dit niet zouden doen, zijn laboratoria die zelf de confirmatietesten uitgevoerd hebben of vermelden zelf ARL te zijn.

Eén laboratorium vermeldde dat de confirmatietest op een nieuw staal zou moeten gebeuren.

6.3.4. Commentaar op de resultaten van het onderzoek

10 tot 15% van de deelnemende laboratoria (n = 186) hebben twee verschillende ELISA tests in gebruik.

20% van de laboratoria gebruikt de AxSYM HIV Ag/Ab Combotest.

Ongeveer de helft van de laboratoria (53%) gebruikt reeds een duotest (As + Ag) maar slechts 1 à 2 % van de laboratoria geeft verslag uit over de Ag test resultaten in het rapport van de kwaliteitscontrole.

De zeven «niet negatieve» resultaten op het negatieve monster zijn allen bekomen met de meest gebruikte test. Abbott heeft dit verder onderzocht (cfr. supra); uiteindelijk zal dit geen problemen geven na uitvoeren van een confirmatietest.

In het algemeen kan men zeggen dat de gevoeligheid voor alle screeningstesten goed is.

De laboratoria die een positief screening resultaat niet ter confirmatie doorsturen naar een referentielaboratorium zijn sterk verminderd in aantal in vergelijking met de vorige jaren. De enkele laboratoria die dit nog niet doen, worden ten stelligste aangeraden hun werkwijze te veranderen. De ARL's hebben niet alleen de taak de HIV infectie te bevestigen of uit te sluiten maar ook de nieuwe HIV geconfirmeerde personen op een anonieme manier te notifiëren in samenwerking met het WIV. Hierdoor kan de HIV epidemiologie in België adequaat opgevolgd en gerapporteerd worden.

Document opgesteld door Dr. Sc. K. Fransen, hoofd ARL-Antwerpen