

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

Globaal Rapport

Externe Kwaliteitsevaluatie voor Analyses Klinische Biologie

Microbiologie/Serologie/Parasitologie

ENQUETE 02/2008

Microbiologie

Salmonella Derby
Escherichia coli
Streptococcus pneumoniae
Campylobacter coli

Parasitologie

Ascaris lumbricoides
Isospora belli

Serologie

Rubella
HCV

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. 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. 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@uzbrussel.be
Dr. PIERARD Denis	:	02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15
	:	e-mail : denis.pierard@uzbrussel.be
Dr. REYNDERS Marijke	:	02/535.45.35 – FAX : 02/535.46.56
	:	e-mail : marijke_reynders@stpierre-bru.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

Inhoudsopgave

I.	Algemene bemerkingen	1
II.	Identificaties	2
2.1	Cultuur M/8114 <i>Escherichia coli</i>	2
2.2	Cultuur M/8065 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	16
2.3	Cultuur M/8319 <i>Campylobacter species</i>	26
2.4	Cultuur M/8519 <i>Salmonella Derby</i>	30
III.	Resultaten van de identificaties	31
IV.	Antibiogram	34
4.1	Cultuur M/8065 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	34
4.2	Cultuur M/8114 <i>Escherichia coli</i>	44
V.	Parasitologie	55
5.1	De monsters	55
5.2	Staal P/7434	56
5.3	Staal P/8315	67
VI.	Serologie	72
6.1	Beschrijving van de monsters	72
6.2	Rubella	73
6.3	HCV	88

I. ALGEMENE BEMERKINGEN

Voor de 2^e evaluatie van het jaar 2008 (enquête 2008/2) werd volgend materiaal verzonden op 21 april 2008.

1.1. Twee klinische en 2 gelyofiliseerde monsters voor identificatie.

Voor 2 monsters werden de resultaten van de gevoeligheidstesten gevraagd

1.2. Twee geformoliseerde fecesstalen voor parasitologisch onderzoek.

1.3. Vier plasmamonsters voor de bepaling van HCV en Rubella

AANTAL DEELNEMERS

Het aantal evalueerbare antwoordbulletins bedroeg:

1.	Voor identificatie en antibiogram:	183
2.	Voor parasitologie :	177
3.	Voor de serologie	
	HCV:	174
	Rubella:	166

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

II. IDENTIFICATIE

2.1. Cultuur M/8114 *Escherichia coli*

Deze stam is dezelfde als degene die onder nummer M/4040 verstuurd werd in de enquête 2008/1.

EQA resultaten voor het antibiogram met ampicilline en amoxicilline-clavulaanzuur na evaluatie van dezelfde *Escherichia coli* tijdens twee zendingen (2008 1 en 2)

In 2008 werd eenzelfde *Escherichia coli* met een borderline gevoeligheid aan ampicilline en amoxicilline-clavulaanzuur twee keer rondgestuurd in de Belgische externe kwaliteitscontrole (2008/1: M/4040; 2008/2: M/8114). Nu wordt de vraag gesteld in hoeverre bepaalde antibiogrammethoden verschillen in hun R/S/I antwoord.

Beschrijving van de aanpak van de statistische analyse

De structuur van de gegevens is omwille van verschillende redenen complex te noemen.

Vooreerst zijn de gegevens verzameld door de laboratoria eenzelfde staal in twee verschillende rondes te laten evalueren. We willen en mogen misschien wel veronderstellen dat de resultaten bekomen bij de twee rondes vergelijkbaar zijn en worden daarin gesterkt door een eerdere, niet-gepubliceerde analyse. Deze vond geen evidentie van verschil tussen de beide enquêtes. Toch willen we ons ook voor fouten beschermen als de resultaten niet zouden overeenkomen.

Daarnaast zijn er verschillende methoden in de studie betrokken en dienen ze met elkaar te worden vergeleken, al dient niet iedere methode met gelijk welke andere te worden vergeleken.

Ten slotte behoren de antwoorden tot drie verschillende categorieën: S, I en R. Indien er een verschil tussen methoden worden gevonden zal minstens één van de onderlinge verhoudingen in percentages S/I/R verschillen. Het is de bedoeling om na te gaan waar die verschillen te vinden zijn.

De chi-kwadraat toets is een veel gebruikte test om na te gaan of twee of meerdere groepen van elkaar verschillen wat betreft een respons die in groepen is ingedeeld. We zouden eventueel de aantallen S, I en R bekomen in de twee rondes kunnen samentellen per methode en een chi-kwadraat toets toepassen op de verschillende vergelijkingen van de methoden. We gaan hiermee echter voorbij aan de complexiteit van de gegevens die hierboven is beschreven.

Er wordt daarom geopteerd om de gegevens te analyseren met een *generalized linear mixed model*. Dit is een meer geavanceerde techniek die tegelijk met de

complexiteit van hierboven rekening kan houden en een antwoord op de gestelde vragen kan bieden.

In het algemeen kan men stellen dat '*linear models*' worden gebruikt indien men de relatie wil nagaan tussen één of meerdere variabelen en een responsvariabele, of groepen wil vergelijken voor een bepaalde responsvariabele. De term '*mixed*' wordt gebruikt voor lineaire modellen waarbij de gegevens niet allemaal onafhankelijk van elkaar kunnen worden beschouwd. In dit geval wordt een random variabele aan het model toegevoegd die de groepering van de gegevens beschrijft. In deze studie vergelijken we de methodes voor de twee rondes samen en beschouwen we de rondes als een random factor.

Deze modellen stellen ons ook in staat om methoden onderling te vergelijken met een toets die heel gelijkaardig is met een t-test. Er moet hier echter wel worden opgelet om de kans op het vinden van verkeerde significante verschillen zo laag mogelijk te houden.

Telkens wanneer men een t-test uitvoert is er een kleine kans (normaal gezien 0.05) dat men een significant verschil vindt terwijl er in feite geen verschil is. Bij het vergelijken van verschillende methoden onderling stijgt de kans dat er ergens een dergelijke fout wordt gemaakt zeer sterk. We verwijzen hierbij naar het artikel van Bender en Lange (1) dat dit probleem duidelijk beschrijft. Voortgaand op dit artikel zorgen we ervoor dat de P-waardes zo zullen worden berekend dat er per tabel een kans is van 0.05 om in één van de vergelijkingen een onbestaand verschil als significant aan te duiden.

Ten slotte dienen we ervoor te zorgen dat het model om kan gaan met het groeps karakter van de responsvariabele. *Linear mixed models* worden normaal gezien gebruikt bij normaal verdeelde responsvariabelen. *Generalized linear mixed models* zijn een uitbreiding van deze en zijn in staat om ook responsvariabelen die tot andere verdelingen behoren te analyseren. Zo zullen de volgende analyses worden uitgevoerd:

Vergelijking van het aandeel aan S t.o.v. R en I

Hier gaan we de het percentage S ten opzichte van alle andere antwoorden vergelijken tussen de methoden. Een significant verschil wijst hier op een verschil in het percentage S-antwoorden. Men kan op basis van de resultaten van deze analyse echter niet nagaan of het aandeel aan S hoger is door een lager aandeel in I, in R of in beide. Het antwoord op deze vraag kan wel met de resultaten in de volgende tabellen worden gegeven.

Vergelijking van het aandeel aan S t.o.v. I

Hier wordt specifiek alleen gekeken naar de S- en I-antwoorden. De R-antwoorden worden dus uit de analyse gelaten. Indien het percentage S lager is bij een bepaalde methode betekent dit dat deze methode relatief gezien meer I-antwoorden heeft.

Vergelijking van het aandeel aan S t.o.v. R

Dezelfde gedachtegang als in de vorige analyse wordt gevolgd, maar nu wordt enkel gekeken naar de S- en R-antwoorden. Indien het percentage S lager is bij een bepaalde methode betekent dit dat deze methode relatief meer R-antwoorden heeft.

Uiteraard kan het ook voorkomen dat een methode meer S antwoorden heeft dan zowel I- als R-antwoorden. In dit geval is er een significant verschil voor zowel S t.o.v. I als voor S t.o.v. R.

Vergelijking van het aandeel aan I t.o.v. R

Indien hier twee methoden van elkaar verschillen wijst dit erop dat, binnen deze groep van diagnoses die min of meer dezelfde klinische relevantie hebben, er een verschuiving is van de ene groep naar de andere. Deze tabel dient vooral ter ondersteuning van de antwoorden die bij de vorige vragen worden beantwoord. Indien er tussen twee methoden bijvoorbeeld een duidelijk verschil is in de verhouding S/R en niet in S/I, dan verwachten we ook een verschil in de verhouding R/I.

Ten slotte dient zeker te worden vermeld dat niet-significante P-waardes niet willen zeggen dat er geen verschil is. Het aantal gegevens dat bij sommige methoden hoort is soms onvoldoende groot om makkelijk significante verschillen te kunnen vinden. Niet-significante P-waardes dienen dus te worden geïnterpreteerd als 'afwezigheid van evidentie van een verschil'.

Bij de tabellen die volgen worden telkens de percentages gegeven van de overeenkomstige methoden die met elkaar worden vergeleken. Let erop dat in de tabellen van de vergelijking van twee groepen deze percentages genomen zijn op een deel van de gegevens en aldus kunnen verschillen van de percentages gegeven in de eerste tabel, die op basis van alle gegevens zijn genomen.

Er zijn ook methoden die 0 % gegevens in een bepaalde klasse hebben. Aangezien er niet door nul kan worden gedeeld, werd er voor de berekening van de P-waardes geopteerd om de 0-percentages te vervangen door een zeer laag percentage (0.1 %). We maken hiermee een fout, die weliswaar verwaarloosbaar klein is.

Analyse voor ampicilline

Tabel 1: Vergelijking van S t.o.v. R en I

Methode	% S	P-waarde
Neosensitabs Neosensitabs ladingen/ Neosensitabs CLSI ladingen	9.86 / 0	0.8628
Sirscan Neosensitabs ladingen / Sirscan CLSI ladingen	7.69 / 0	0.9893
papier CLSI ladingen / Neosensitabs CLSI ladingen	0 / 0	1
papier CLSI ladingen/ Sirscan CLSI ladingen	0 / 0	1
papier CLSI ladingen / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	0 / 9.86	0.0294
papier CLSI ladingen / Osiris	0 / 0	1
Vitek 2 Compact / papier CLSI ladingen	0 / 0	1
Vitek 2 / papier CLSI ladingen	0 / 0	1
Phoenix / papier CLSI ladingen	0 / 0	1
Vitek 2 Compact / Neosensitabs CLSI ladingen	0 / 0	1
Vitek 2 / Neosensitabs CLSI ladingen	0 / 0	1
Phoenix / Neosensitabs CLSI ladingen	0 / 0	1
Vitek 2 Compact / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	0 / 9.86	0.0612
Vitek 2 / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	0 / 9.86	0.0002
Phoenix / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	0 / 9.86	0.5655

Er zijn twee methoden die de *E. coli* stam als S aanduiden: Neosensitabs, Neosensitabs ladingen en Sirscan, Neosensitabs ladingen. De enige groep waar de Sirscan, Neosensitabs ladingen mee wordt vergeleken is de Sirscan met CLSI ladingen. Van deze groep zijn in totaal maar vier gegevens bekend, wat meteen een verklaring kan zijn voor de niet-significante P-waarde.

De Neosensitabs schijfjes met Neosensitabs ladingen verschillen duidelijk significant van de Vitek 2 en de papieren schijfjes met CLSI-ladingen, en licht significant van de resultaten van de Vitek 2 Compact.

Tabel 2: Vergelijking van S t.o.v. I

Methode	% S	P-waarde
papier CLSI ladingen / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	0 / 25	0.7982
Vitek 2 Compact / papier CLSI ladingen	0 / 0	1
Vitek 2 / papier CLSI ladingen	0 / 0	1
Phoenix / papier CLSI ladingen	0 / 0	1
Vitek 2 Compact / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	0 / 25	0.0083
Vitek 2 / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	0 / 25	<0.0001
Phoenix / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	0 / 25	0.189

Er zijn groepen waar noch S, noch I werd gerapporteerd (Neosensitabs met CLSI ladingen, Osiris, Sirscan met CLSI ladingen) en waarvoor dus totaal geen gegevens voorhanden zijn. De vergelijkingen met deze groepen kunnen dus niet worden gemaakt.

De Neosensitabs schijfjes met Neosensitabs ladingen blijken een significant hoger percentage S t.o.v. I te geven dan de Vitek 2 Compact en de Vitek 2.

Tabel 3: Vergelijking van S t.o.v. R

Methode	% S	P-waarde
Neosensitabs Neosensitabs ladingen/ Neosensitabs CLSI ladingen	14 / 0	0.8595
Sirscan Neosensitabs ladingen / Sirscan CLSI ladingen	10 / 0	0.9906
papier CLSI ladingen / Neosensitabs CLSI ladingen	0 / 0	1
papier CLSI ladingen/ Sirscan CLSI ladingen	0 / 0	1
papier CLSI ladingen / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	0 / 14	0.0359
papier CLSI ladingen / Osiris	0 / 0	1
Vitek 2 Compact / papier CLSI ladingen	0 / 0	1
Vitek 2 / papier CLSI ladingen	0 / 0	1
Phoenix / papier CLSI ladingen	0 / 0	1
Vitek 2 Compact / Neosensitabs CLSI ladingen	0 / 0	1
Vitek 2 / Neosensitabs CLSI ladingen	0 / 0	1
Phoenix / Neosensitabs CLSI ladingen	0 / 0	1
Vitek 2 Compact / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	0 / 14	0.5966
Vitek 2 / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	0 / 14	0.152
Phoenix / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	0 / 14	0.9668

Het significante verschil, gevonden in de eerste tabel voor de vergelijking tussen papier, CLSI tegenover Neosensitabs, Neosensitabs ladingen, blijkt veroorzaakt te worden door een verschuiving van R naar S.

Tabel 4: Vergelijking van I t.o.v. R

Methode	% S	P-waarde
Neosensitabs Neosensitabs ladingen/ Neosensitabs CLSI ladingen	32.81 / 0	0.9655
Sirscan Neosensitabs ladingen / Sirscan CLSI ladingen	25 / 0	0.9985
papier CLSI ladingen / Neosensitabs CLSI ladingen	5.45 / 0	0.9989
papier CLSI ladingen/ Sirscan CLSI ladingen	5.45 / 0	0.9999
papier CLSI ladingen / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	5.45 / 32.81	0.0016
papier CLSI ladingen / Osiris	5.45 / 0	0.9946
Vitek 2 Compact / papier CLSI ladingen	65.22 / 5.45	<0.0001
Vitek 2 / papier CLSI ladingen	59.72 / 5.45	<0.0001
Phoenix / papier CLSI ladingen	70.59 / 5.45	<0.0001
Vitek 2 Compact / Neosensitabs CLSI ladingen	65.22 / 0	0.8647
Vitek 2 / Neosensitabs CLSI ladingen	59.72 / 0	0.8847
Phoenix / Neosensitabs CLSI ladingen	70.59 / 0	0.8415
Vitek 2 Compact / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	65.22 / 32.81	0.003
Vitek 2 / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	69.35 / 32.81	0.0008
Phoenix / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	70.59 / 32.81	0.0311

De Vitek 2 Compact, Vitek 2 en Phoenix blijken hoger te scoren voor I dan voor R, terwijl dat bij papier, CLSI tegenovergesteld is. Dit komt overeen met de eerder gevonden bevindingen.

Besluit voor ampicilline

De enige groep waarvoor significant hogere S-waarden werd gevonden zijn de Neosensitabs met Neosensitabs ladingen (tabellen 1, 2, 3, 9 en 10). De verschillen zijn merkbaar voor papieren schijfjes met CLSI ladingen, Vitek 2 Compact en Vitek 2. In vergelijking met Vitek 2 is de verhoging voor S zowel tegenover R en I, in vergelijking met de Vitek 2 Compact vooral tegenover I en in vergelijking met de papieren schijfjes vooral tegenover R.

Analyse voor amoxicilline clavulaanzuur

Tabel 5: Vergelijking van S t.o.v. R en I

Methode	% S	P-waarde
Neosensitabs Neosensitabs ladingen/ Neosensitabs CLSI ladingen	76.62 / 63.64	0.9718
Sirscan Neosensitabs ladingen / Sirscan CLSI ladingen	100 / 83.33	0.9869
papier CLSI ladingen / Neosensitabs CLSI ladingen	33.96 / 63.64	0.4242
papier CLSI ladingen/ Sirscan CLSI ladingen	33.96 / 83.33	0.1926
papier CLSI ladingen / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	33.96 / 76.62	<0.0001
papier CLSI ladingen / Osiris	33.96 / 66.67	0.1724
Vitek 2 Compact / papier CLSI ladingen	4.55 / 33.96	0.0032
Vitek 2 / papier CLSI ladingen	1.59 / 33.96	<0.0001
Phoenix / papier CLSI ladingen	0 / 33.96	0.8809
Vitek 2 Compact / Neosensitabs CLSI ladingen	4.55 / 63.64	0.0002
Vitek 2 / Neosensitabs CLSI ladingen	1.59 / 63.64	<0.0001
Phoenix / Neosensitabs CLSI ladingen	0 / 63.64	0.671
Vitek 2 Compact / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	4.55 / 76.62	<0.0001
Vitek 2 / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	1.59 / 76.62	<0.0001
Phoenix / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	0 / 76.62	0.5254

Er blijkt een significant groter aandeel S-antwoorden te zijn voor Neosensitabs (zowel CLSI ladingen als Neosensitabs ladingen), en voor papieren schijfjes met CLSI ladingen. De verschillen zijn significant tussen papier, CLSI ladingen en Neosensitabs, Neosensitabs ladingen, en tussen de papieren en Neosensitabs schijfjes en de Vitek 2 Compact en Vitek 2.

Tabel 6: Vergelijking van S t.o.v. I

Methode	% S	P-waarde
Neosensitabs Neosensitabs ladingen/ Neosensitabs CLSI ladingen	80.82 / 63.64	0.8499
Sirscan Neosensitabs ladingen / Sirscan CLSI ladingen	100 / 83.33	0.9871
papier CLSI ladingen / Neosensitabs CLSI ladingen	40.91 / 63.64	0.7859
papier CLSI ladingen/ Sirscan CLSI ladingen	40.91 / 83.33	0.3802
papier CLSI ladingen / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	40.91 / 80.82	0.0001
papier CLSI ladingen / Osiris	40.91 / 66.67	0.5023
Vitek 2 Compact / papier CLSI ladingen	5.13 / 40.91	0.0015
Vitek 2 / papier CLSI ladingen	1.69 / 40.91	<0.0001
Phoenix / papier CLSI ladingen	0 / 40.91	0.8605
Vitek 2 Compact / Neosensitabs CLSI ladingen	5.13 / 63.64	0.0005
Vitek 2 / Neosensitabs CLSI ladingen	1.69 / 63.64	<0.0001
Phoenix / Neosensitabs CLSI ladingen	0 / 63.64	0.7093
Vitek 2 Compact / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	5.13 / 80.82	<0.0001
Vitek 2 / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	1.69 / 80.82	<0.0001
Phoenix / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	0 / 80.82	0.5222

Het verschil dat eerder werd gevonden tussen zowel Vitek 2 Compact, Vitek 2 met de papieren en Neosensitabs schijfjes wordt volledig gereflecteerd in de verhouding tussen S en I. Dat wil zeggen dat voor de papieren en Neosensitabs schijfjes, in vergelijking met de Vitek 2 Compact en Vitek 2, het hoger aandeel aan S ten koste gaat van een lager aandeel in I. Hetzelfde geldt voor de vergelijking tussen papieren schijfjes met CLSI ladingen en de Neosensitabs met Neosensitabs ladingen.

Tabel 7: Vergelijking van S t.o.v. R

Methode	% S	P-waarde
Neosensitabs Neosensitabs ladingen/ Neosensitabs CLSI ladingen	93.65 / 100	0.9992
Sirscan Neosensitabs ladingen / Sirscan CLSI ladingen	100 / 100	1
papier CLSI ladingen / Neosensitabs CLSI ladingen	66.67 / 100	0.9721
papier CLSI ladingen/ Sirscan CLSI ladingen	66.67 / 100	0.99
papier CLSI ladingen / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	66.67 / 93.65	0.0011
papier CLSI ladingen / Osiris	66.67 / 100	0.9175
Vitek 2 Compact / papier CLSI ladingen	28.57 / 66.67	0.2015
Vitek 2 / papier CLSI ladingen	20 / 66.67	0.0291
Phoenix / papier CLSI ladingen	0 / 66.67	0.9997
Vitek 2 Compact / Neosensitabs CLSI ladingen	28.57 / 100	0.8522
Vitek 2 / Neosensitabs CLSI ladingen	20 / 100	0.8094
Phoenix / Neosensitabs CLSI ladingen	0 / 100	0.9905
Vitek 2 Compact / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	28.57 / 93.65	<0.0001
Vitek 2 / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	20 / 93.65	<0.0001
Phoenix / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	0 / 93.65	0.9977

De verschillen tussen de Neosensitabs schijfjes met Neosensitabs ladingen en zowel de Vitek 2 als de Vitek 2 Compact en papieren schijfjes is ook merkbaar in een hogere S en dus lagere R voor de eerstgenoemde.

Tabel 8: Vergelijking van I t.o.v. R

Methode	% S	P-waarde
Neosensitabs Neosensitabs ladingen/ Neosensitabs CLSI ladingen	77.78 / 100	0.9989
papier CLSI ladingen / Neosensitabs CLSI ladingen	74.29 / 100	0.9985
papier CLSI ladingen/ Sirscan CLSI ladingen	74.29 / 100	1
papier CLSI ladingen / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	74.29 / 77.78	1
papier CLSI ladingen / Osiris	74.29 / 100	0.9969
Vitek 2 Compact / papier CLSI ladingen	88.1 / 74.29	0.6067
Vitek 2 / papier CLSI ladingen	93.55 / 74.29	0.0196
Phoenix / papier CLSI ladingen	94.12 / 74.29	0.4957
Vitek 2 Compact / Neosensitabs CLSI ladingen	88.1 / 100	0.9997
Vitek 2 / Neosensitabs CLSI ladingen	93.55 / 100	0.9999
Phoenix / Neosensitabs CLSI ladingen	94.12 / 100	0.9999
Vitek 2 Compact / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	88.1 / 77.78	0.933
Vitek 2 / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	93.55 / 77.78	0.2813
Phoenix / Neosensitabs Neosensitabs ladingen	94.12 / 77.78	0.7461

Er blijken nauwelijks verschillen merkbaar in de verhoudingen tussen I en R. Alleen de Vitek 2 heeft een bijzonder hoog aandeel aan I tegenover R in vergelijking met papieren schijfjes met CLSI ladingen.

Besluit voor amoxicilline-clavulaanzuur

Er zijn drie methoden die een significant hoger aandeel aan S hebben dan andere methoden: papieren schijfjes met CLSI ladingen, Neosensitabs met CLSI ladingen en Neosensitabs met Neosensitabs ladingen (tabellen 5, 6, 7, 9 en 10).

Alleen bij de Neosensitabs met CLSI ladingen (tabellen 5 en 6) is de stijging in S enkel ten koste van I. Bij alle andere methoden is de stijging in S ten koste van zowel R als I, op een niet-significant verschil tussen Vitek 2 Compact en papieren schijfjes met CLSI ladingen niet ten na gesproken.

Bespreking

In tabel 9 zijn de significante verschillen samengevat uit de tabellen 1 tot 8. In tabel 10 zijn de resultaten voor ampicilline en amoxicilline-clavulaanzuur met de vier methoden met het grootste aantal gebruikers weergegeven. Het is logisch dat we vooral significante verschillen aantreffen op de grootste groepen (tabel 9 en 10). Globaal stellen we ook vast dat er meer significante verschillen voorkomen bij amoxicilline-clavulaanzuur (19) dan bij ampicilline (12). Het lijkt logisch dat kalibraties van een antibioticum met twee componenten (amoxicilline-clavulaanzuur) moeilijker zijn dan met één component (ampicilline).

Voor ampicilline en nog meer uitgesproken voor amoxicilline-clavulaanzuur geven de Rosco Neosensitabs tabletten met ijking volgens Neosensitabs het hoogste aantal gevoelige stammen. Deze trend voor amoxicilline-clavulaanzuur werd reeds opgemerkt met *Escherichia coli* ATCC 35218 (welke een penicillinase produceert) in de enquête 1999/2 en voor amoxicilline-clavulaanzuur en ampicilline met *Escherichia coli* ATCC 25922 (ampicilline en amoxicilline-clavulaanzuur gevoelig) in de enquête 2001/2.

In tabel 10 vallen nog enkele trends af te leiden. Voor iedere methode is de klasse met de meeste antwoorden in het geel aangeduid. Zowel Vitek2 als Vitek2 compact meten vooral I voor ampicilline, daar waar de schijfjes (CLSI en Neosensitabs) eerder R meten. De verschillen zijn significant. Voor amoxicilline-clavulaanzuur is de trend S voor Neosensitabs versus I voor de drie anderen (papier schijfjes CLSI, Vitek2 en Vitek2 compact) ook significant. Alleen voor ampicilline heeft Phoenix relatief gezien significant meer I dan Neosensitabs met Neosensitabs-ladingen.

Zoals besproken in Hoofdstuk IV (Antibiogram) van beide enquêtes (4.2. Cultuur M/4040 (*Escherichia coli*) (enquête 2008/1) en 4.2. Cultuur M/8114 (*Escherichia coli*) (enquête 2008/2)) is de meest vermelde MIC-waarde met Vitek2, Vitek2 compact en Phoenix (drie grootste groepen van MIC-waarden) voor de twee enquêtes (M/4040 en M/8114) zowel voor amoxicilline-clavulaanzuur als voor ampicilline 16 mg/L. Dit laat vermoeden dat enerzijds deze *E. coli* een borderline gevoeligheid vertoont voor zowel amoxicilline-clavulaanzuur als voor ampicilline. Op basis van deze identische MIC-waarden voor amoxicilline-clavulaanzuur en ampicilline kunnen we ook vermoeden dat deze stam niet of niet uitsluitend een penicillinase type TEM-1, maar vermoedelijk (een) ander(e) resistentiemechanisme(n) aan β -lactamantibiotica vertoont.

Het is begrijpelijk dat het uittesten van een stam met borderline gevoeligheden voor amoxicilline-clavulaanzuur en voor ampicilline deze (mineure, S-I of I-R) verschillen vertoont.

Tabel 9: Significante verschillen

	S vs R en I	S vs I	S vs R	I vs R
ampicilline	pap. CLSI / Neo-Neo Vitek2 / Neo-Neo	Vitek2 / Neo-Neo VitekComp / Neo-Neo	pap. CLSI / Neo-Neo	pap. CLSI / Neo-Neo Neo-Neo / Vitek2 Neo-Neo / VitekComp Neo-Neo / Phoenix pap. CLSI/ Vitek2 pap. CLSI/ VitekComp pap. CLSI/ Phoenix
amoxicilline- clavulaanzuur	pap. CLSI / Neo-Neo VitekComp / pap. CLSI Vitek2 / pap. CLSI VitekComp/ Neo-CLSI Vitek2 / Neo-CLSI Vitek2 / Neo-Neo VitekComp / Neo-Neo	pap. CLSI / Neo-Neo Vitek2 / pap. CLSI VitekComp / pap. CLSI VitekComp/ Neo-CLSI Vitek2 / Neo-CLSI Vitek2 / Neo-Neo VitekComp / Neo-Neo	pap. CLSI / Neo-Neo Vitek2 / pap. CLSI Vitek2 / Neo-Neo VitekComp / Neo-Neo	 pap. CLSI / Vitek2

Tabel 10: Significante verschillen

<i>Escherichia coli</i>	M/4040				M/8114			
	n	S	I	R	n	S	I	R
ampicilline								
papier CLSI	28	0	2	26	27	0	1	26
Neosensitabs- Neosen ladingen	38	5	12	21	33	2	9	22
Vitek2	61	0	46	15	63	0	40	23
Vitek 2 compact	21	0	15	6	25	0	15	10
Phoenix	8	0	6	2	9	0	6	3
amoxicilline- clavulaanzuur								
papier CLSI	26	8	14	4	27	10	12	5
Neosensitabs- Neosen ladingen	41	28	9	4	36	31	5	0
Vitek2	62	1	57	4	64	1	59	4
Vitek 2 compact	20	0	18	2	24	2	19	3
Phoenix	8	0	8	0	9	0	8	1

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

REFERENTIES

1. Bender R., Lange S. 2001. Adjusting for multiple testing - when and how? *Journal of Clinical Epidemiology* 54:343-349.
2. Lontie M. Externe kwaliteitsevaluatie van de analyses in Klinische Biologie, enquête Microbiologie 2/ 1999 (M/1498).
3. Lontie M. Externe kwaliteitsevaluatie van de analyses in Klinische Biologie, enquête Microbiologie 2/ 2001 (M/2259).

2.2. Cultuur M/8065 *Streptococcus pneumoniae*

Stam M/8065 was een *Streptococcus pneumoniae* kapseltype 11. Deze stam stelde in feite geen enkel probleem voor wat betreft de identificatie. Al de 183 deelnemende laboratoria identificeerden deze stam correct.

Ook voor het antibiogram werden een zeer hoog percentage correcte resultaten ingestuurd. Tabel 1 geeft een overzicht van de ingestuurde resultaten voor de verschillende antibiotica. Opvallend is het groot aantal verschillende chinolones die gebruikt worden. Hier zou men best een fluorochinolone selecteren waarvan breekpuntconcentraties door CLSI of EUCAST vastgelegd werden. CLSI heeft bijvoorbeeld geen breekpuntconcentraties voor ciprofloxacin en norfloxacin.

Gebruikers van papieren schijfjes volgens CLSI (tabel 2), gebruikers van Neosensitabs met Rosco richtlijnen (tabel 3) en met CLSI richtlijnen (tabel 4) behaalden zonder uitzondering zeer gunstige resultaten. Uitvoeren van MIC-bepalingen voor β -lactam antibiotica was voor deze stam niet nodig aangezien we met het oxacilline 1 μ g schijfje inhibitiezones van ≥ 20 mm kwamen.

Door 35 laboratoria werd een MIC bepaling met E-test (32x) of met MIC-Evaluator (3x) uitgevoerd. Door al de laboratoria werd de stam als gevoelig gerapporteerd. Ook de resultaten bekomen met Vitek (43x) en Phoenix (6x) waren uitstekend voor penicilline, erythromycine, tetracycline en verschillende fluorochinolones.

Op basis van de gegevens van het nationaal referentielaboratorium voor *S. pneumoniae* mogen we besluiten dat voor resistentie tegen antibiotica bij invasieve isolaten er een gunstige evolutie tijdens de voorbije jaren in België vastgesteld kan worden. Tabel 5 en figuur 1 geven een overzicht van de evolutie van de resistentiepercentages voor de vier referentie-antibiotica. Verminderde gevoeligheid voor penicilline werd in 2000 gevonden bij 17.6% en in 2007 slechts bij 10% van de onderzochte stammen. Ook voor erythromycine en tetracycline werd een significante vermindering van de resistentiepercentages vastgesteld.

Voor de surveillance hanteren we voorlopig de CLSI criteria voor 'meningitisstammen' ($S \leq 0.06 \mu\text{g/ml}$, $I: 0.12 - 1 \mu\text{g/ml}$, $R: \geq 2 \mu\text{g/ml}$). In juli 2007 werd door CLSI echter aan de FDA voorgesteld de volgende actie te ondernemen "....the newly approved CLSI nonmeningitis breakpoints for penicillin parenteral are susceptible $\leq 2 \mu\text{g/ml}$, $I: 4 \mu\text{g/ml}$ and resistant $\geq 8 \mu\text{g/ml}$. Breakpoints for penicillin V potassium for oral administration are the same as the meningitis breakpoints..." (1). De officiële meest recente publicatie van CLSI (Table 2G, M7-MIC, Vol 28 N° 1, January 2008) geeft ook aan dat niet-meningitis isolaten met een $MIC \leq 2 \mu\text{g/ml}$ als gevoelig voor ampicilline (parenteraal), amoxicilline, amoxicilline-clavulaanzuur, cefotaxime, ceftriaxon en cefepime mogen

gerapporteerd worden. Voor carbapenems moet daarentegen rekening gehouden worden met een MIC voor penicilline van $\leq 0.06 \mu\text{g/ml}$. Voor screening van eventuele penicilline resistentie blijft de oxacilline $1 \mu\text{g}$ disc in voege.

De Eucast hanteert voor penicilline de oude CLSI breekpuntconcentraties ($S \leq 0.06 \text{ mg/L}$, $R > 2 \text{ mg/L}$) en voor amoxicilline en ampicilline ($S \leq 0.5 \text{ mg/L}$, $R > 2 \text{ mg/L}$) (3). Onderaan de tabel vindt men echter een voetnoot die enige toelichting geeft waarbij het gebruik van penicilline bij pneumonie benadrukt wordt zolang de stam geen MIC waarde heeft boven de 2 mg/L . "...In pneumonia, strains with $\text{MIC} \leq 0.5 \text{ mg/L}$ should be regarded as susceptible to penicillin at doses of at least $1.2 \text{ g} \times 4$, with $\text{MIC} \leq 1 \text{ mg/L}$ at doses of $2.4 \text{ g} \times 4$ or $1.2 \text{ g} \times 6$ and strains with $\text{MIC} \leq 2 \text{ mg/L}$ susceptible at doses of $2.4 \text{ g} \times 6$. Meningitis isolates with MIC above 0.06 mg/L should be categorized resistant to penicillin. For other indications breakpoints of $0.06/2 \text{ mg/L}$ are valid..." De overschakeling naar EUCAST richtlijnen, voorlopig voorzien voor januari 2010, zal dus ook voor een verandering van de rapportering van het antibiogram voor *S. pneumoniae* tot gevolg hebben.

In 2007 hadden 172 van de 1728 stammen die in het referentielaboratorium onderzocht werden een MIC voor penicilline van $\geq 0.06 \mu\text{g/ml}$ waarvan 8 stammen uit lumbaalvocht en 164 stammen uit andere infectielokalisaties geïsoleerd werden. Twee van de 164 stammen hadden een MIC van $3 \mu\text{g/ml}$, al de overige 162 stammen hadden een MIC tussen 0.12 en $2 \mu\text{g/ml}$ en moeten dus volgens de huidige CLSI criteria als gevoelig gecatalogeerd worden.

Rapportering van het resultaat voor penicilline volgens de nieuwe breekpuntconcentraties moet aangemoedigd worden omdat dit kan bijdragen tot een frequenter gebruik van penicilline en amoxicilline met sparen van de derde generatie cefalosporines en respiratoire fluorochinolones.

De gunstige evolutie van de antibioticaresistentie wordt niet alleen gerapporteerd vanuit België maar ook vanuit andere West-Europese landen. De verklaring van deze zeer gunstige evolutie moet gezocht worden bij een combinatie van verschillende factoren zoals de reductie in het antibioticumverbruik (vooral ambulant) en de veralgemeende implementatie van het 7-valent geconjugerd pneumokokkenvaccin. In dit vaccin werden enkele multiresistente en frequente serotypen (14, 19F, 6B, 23F en 9V) geïncubeerd. Dank zij de vaccinatie van zuigelingen sedert 2000 toegepast in de Verenigde Staten is het aantal invasieve pneumo-kokkeninfecties aldaar met kapseltypen geïncubeerd in het vaccin gereduceerd met 99% in de leeftijdscategorie < 2 jaar. Ook bij volwassenen wordt een significante reductie vastgesteld op basis van de zogeheten 'haard immuniteit' (4). Ook in België waar het vaccin sedert januari 2007 terugbetaald wordt, vindt

men bij kinderen jonger dan 2 jaar een significante reductie van het aantal invasieve pneumokokkeninfecties maar voorlopig niet bij kinderen in de leeftijdsgroep 2 - 4 jaar (5). De 'replacement' door kapseltypen niet geïncubeerd in het vaccin is controversieel. Antilichamen tegen kapseltype 19 F (behorend tot het 7- valent geconjugeerd vaccin) zijn zeker niet protectief tegen kapseltype 19A. In heel wat landen met behoorlijke vaccinatiegraad neemt het aantal infecties met 19A in belangrijke mate toe (6). Ook infecties met serotype 1 en 7F nemen in aantal duidelijk toe in deze regio's. In België was de toename van serotypes 19A en 1 reeds duidelijk aan de gang voor de start van de veralgemeende vaccinatie bij zuigelingen (7).

J. Verhaegen en K. Vernelen

Tabel 1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Aantal resultaten	S	S/I	I	R	*
Penicilline	S	176	172	-	2	1	1 ¹
Erythromycine	S	174	170	1	1	1	1 ¹
Clarithromycine ²	S	2	2	-	-	-	-
Clindamycine	S	112	111	-	1	-	-
Tetracycline	S	136	133	-	-	2	1 ¹
Doxycycline ³	S	20	20	-	-	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	S	27	24	-	2	1	-
Gatifloxacin	S	1	1	-	-	-	-
Levofloxacin	S	49	49	-	-	-	-
Moxifloxacin	S	68	68	-	-	-	-
Norfloxacin	S	2	-	-	-	2	-
Ofloxacin	S	33	31	-	1	-	1 ¹
Sparfloxacin	S	1	1	-	-	-	-
"Chinolone" ⁴	S	2	2	-	-	-	-

¹ Eén laboratorium gaf wel de MIC-waarden voor penicilline, erythromycine, tetracycline en ofloxacin maar geen kwalitatieve interpretatie.

² Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor clarithromycine in plaats van voor erythromycine.

³ Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor doxycycline in plaats van voor tetracycline.

⁴ Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

Tabel 2. Bekomen diameters met de papieren schijfjes volgens CLSI voor staal M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (μg /schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Penicilline	(32)				31	-	-	1 ¹
	20	Oxa 1 ²	25	21 - 32	19	-	-	1 ¹
	3	6 ³	32	32 - 40	3	-	-	-
	4	10 ³	32	30 - 40	4	-	-	-
Erythromycine	29 (32)	15	26	22 - 38	32	-	-	-
Clarithromycine	2 (2)	15	26	25 - 27	2	-	-	-
Clindamycine	29 (32)	2	23	18 - 34	31	1	-	-
Tetracycline	23 (27)	30	27	23 - 35	27	-	-	-
Doxycycline	3 (3)	30	34	23 - 34	3	-	-	-
Chinolones								
Ciprofloxacin	6 (7)	5	20	15 - 20	5	1	1	-
Levofloxacin	4 (5)	5	23	19 - 25	5	-	-	-
Moxifloxacin	12 (13)	5	25	19 - 32	13	-	-	-
Ofloxacin	8 (8)	5	18	16 - 22	8	-	-	-

¹ Eén laboratorium gaf wel de bekomen diameter door maar verwees voor het resultaat naar het resultaat van de E-test ("S").

² De meeste gebruikers van deze techniek hebben de gevoeligheid voor penicilline bepaald aan de hand van het oxacilline-schijfje van 1 μg /schijfje. Eén van deze laboratoria antwoordde een diameter > 20 mm.

³ Enkele laboratoria hebben de penicillineschijfjes met een lading van 6 of 10 U/schijfje gebruikt.

Tabel 3. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (Neosensitabs ladingen) voor staal M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (μg /schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	S/I	I	R
Penicilline ¹	(47)				47	-	-	-
	24	Oxa 1 ²	29	20 - 32	24	-	-	-
	15	5 ³	38	30 - 42	15	-	-	-
Erythromycine ⁴	44 (54)	78	32	20 - 43	52	1	1	-
Clindamycine ⁵	38 (47)	25	32	25 - 47	47	-	-	-
Tetracycline ⁶	24 (37)	80	34	26 - 42	36	-	-	1
Doxycycline ⁷	10 (11)	80	31	28 - 38	11	-	-	-
Chinolones								
Ciprofloxacin ⁸	13 (15)	10	25	20 - 36	15	-	-	-
Levofloxacin	9 (10)	5	24	21 - 28	10	-	-	-
Moxifloxacin ⁹	11 (15)	5	26	20 - 50	15	-	-	-
Norfloxacin	1 (1)	10	13	13 - 13	-	-	-	1
Ofloxacin ¹⁰	10 (11)	10	22	20 - 25	11	-	-	-
Chinolone	- (1)	-	-	-	1	-	-	-

¹ Voor het oxacillineschijfje met lading 1 μg heeft tevens 1 laboratorium een diameter > 20 mm. geantwoord en 1 een diameter > 30 mm. Voor het penicillineschijfje met lading 5 U hebben 2 laboratoria een diameter > 30 mm. geantwoord.

² De meeste gebruikers van deze techniek hebben de gevoeligheid voor penicilline bepaald aan de hand van het oxacilline-schijfje van 1 μg /schijfje.

³ Enkele laboratoria hebben de penicillineschijfjes met een lading van 5 U/schijfje gebruikt.

⁴ Tevens heeft één laboratorium een diameter > 28 mm. geantwoord en 3 laboratoria een diameter > 30 mm.

⁵ Tevens heeft één laboratorium een diameter > 28 mm. geantwoord en 4 laboratoria een diameter > 30 mm.

⁶ Tevens hebben 3 laboratoria een diameter > 30 mm. geantwoord. Het laboratorium dat "R" antwoordde, stelde een doorgroei in de gevoelige zone vast na 24h.

⁷ Tevens heeft één laboratorium een diameter > 26 mm. geantwoord.

⁸ Tevens heeft één laboratorium een diameter > 30 mm. geantwoord.

⁹ Tevens heeft één laboratorium een diameter > 18 mm. geantwoord.

¹⁰ Tevens heeft één laboratorium een diameter > 30 mm. geantwoord

Tabel 4. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (CLSI ladingen) voor staal M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (μg /schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline	(5)				5	-	-
	3	Oxa ¹	32	27 - 36	3	-	-
	2	10 ²	36	32 - 40	2	-	-
Erythromycine	7 (7)	15	28	22 - 34	7	-	-
Clindamycine	6 (6)	2	24	21 - 32	6	-	-
Tetracycline	2 (2)	30	29	26 - 32	2	-	-
Doxycycline	3 (3)	30	30	29 - 36	3	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	1 (1)	5	22	22 - 22	1	-	-
Levofloxacin	1 (1)	5	22	22 - 22	1	-	-
Moxifloxacin	2 (2)	5	29	28 - 30	2	-	-
Norfloxacin	1 (1)	10	12	12 - 12	-	-	1
Ofloxacin	1 (1)	5	18	18 - 18	1	-	-

¹ De meeste gebruikers van deze techniek hebben de gevoeligheid voor penicilline bepaald aan de hand van het oxacilline-schijfje van $1\mu\text{g}$ /schijfje.

² Enkele laboratoria hebben de penicillineschijfjes met een lading van 10 U/schijfje gebruikt.

Tabel 5. Pneumokokken. Evolutie van antibiotica-resistentie.*

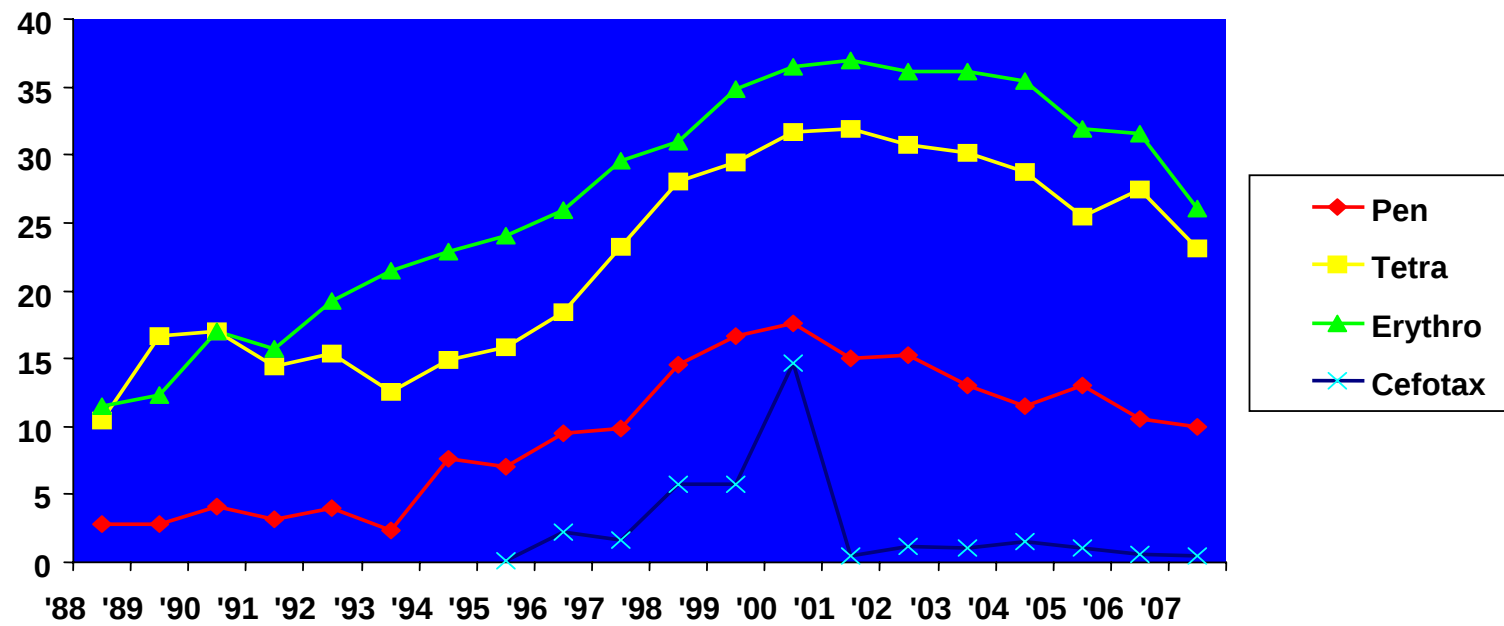
	1987 N=433 (%)	1988 N=382 (%)	1989 N=520 (%)	1990 N=540 (%)	1991 N=536 (%)	1992 N=552 (%)	1993 N=641 (%)	1994 N=751 (%)	1995 N=992 (%)	1996 N=1289 (%)	1997 N=1241 (%)
Penicilline G**	12 (2.7)	5(1.3)	15(2.8)	22(4.1)	17(3.2)	22(4.0)	15(2.3)	57(7.6)	70(7.1)	122 (9.5)	124(10)
Tetracycline	73(16.8)	40(10.4)	87(16.7)	92(17.0)	77(14.4)	85(15.4)	81(12.6)	112(14.9)	157(15.8)	237 (18.4)	288(23.2)
Ofloxacin									4(0.4)		3(0.2)
Erythromycine	36(8.3)	44(11.5)	64(12.3)	92(17.0)	84(15.7)	106(19.2)	138(21.5)	171(22.9)	239(24.1)	334 (25.9)	355(28.6)

	1998 N=1205 (%)	1999 N=1216 (%)	2000 N=1218 (%)	2001 N=1427 (%)	2002 N=1542 (%)	2003 N=1917 (%)	2004 N=1744 (%)	2005 N= 1737 (%)	2006 N=1609 (%)	2007 N=1726 (%)
Penicilline G**	171(14.2)	202(16.5)	215(17.6)	214(15)	234(15.1)	249(13)	202(11.6)	226(13)	169 (10.5)	172(10)
Tetracycline	338(28.0)	359(29.4)	386(31.7)	431(30.2)	474(30.7)	580(30.2)	501(28.7)	443(25.5)	443 (27.5)	398(23.1)
Ofloxacin	2(0.1)	6(0.5)	4(0.3)	2(0.1)	7(0.5)	10(0.5)	11(0.6)	17(1)	10 (0.6)	9(0.5)
Erythromycine	374(31.0)	425(34.8)	445(36.5)	523(36.6)	557(36.1)	692(36.1)	618(35.4)	554(31.9)	508 (31.6)	449(26)

* volgens CLSI-criteria

** zowel intermediaire - als volledig resistente stammen

Figuur 1 Evolutie van de antibioticaresistentie



REFERENTIES

1. Division of Dockets Management, FDA, July 2, 2007
2. EUCAST clinical MIC breakpoints - Penicillins, document 2008-05-12 version 1.1 (www.eucast.org)
3. C. Whitney, Symposium KS11, 6 th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases, Reykjavik, 8 - 12 June 2008
4. Lernout T, Hanquet G, Verhaegen J. Poster045: Epidemiology of invasive pneumococcal disease after introduction of the conjugate vaccine: the Belgian experience. ISPPD, Reykjavik, 8 - 12 June, 2008
5. Moore MR, Gertz RE, Woodbury RL et al. Population snapshot of emergent *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A in the United States, 2005. Journal of Infectious Diseases 2008: 197-1027
6. G. Hanquet et al, S01-04 ISSPD, Reykjavik 8-12 June, 2008

2.3. Cultuur M/8319 *Campylobacter species*

Ter gelegenheid van de externe kwaliteitscontrole in 2002 werd eveneens een *Campylobacter* verstuurd.

De resultaten van de identificatie tot op genusniveau zijn vergelijkbaar, 91% correcte antwoorden in 2002 en 91,2% in 2008.

Taxonomie en identificatie

Campylobacter vormt de voornaamste oorzaak van bacteriële diarree in België.¹ Vermits de door *Campylobacter* veroorzaakte diarree meestal niet ernstig is en beperkt in de tijd, vereist deze meestal geen antibioticatherapie.² Wanneer antibiotica noodzakelijk zijn (ernstige infecties, jonge kinderen, ouderen, immuungedeprimeerden), zijn de aangewezen antibiotica macroliden of fluorochinolones, maar deze laatste enkel op basis van het antibiogram.

Het genus *Campylobacter* bestaat uit Gram negatieve, katalase (+) bacteriën, die spiraalvormig zijn, microaërofiel (groeit in een omgeving die rijk is aan CO₂ en arm aan zuurstof) en thermofiel (goede groei bij 42°C).

Voor de isolatie gebruikt men meestal selectieve bodems die antibiotica bevatten. *Campylobacter jejuni* en *Campylobacter coli* zijn de frequentst uit stoelgang geïsoleerde species (> 99% van de gevallen) als men enkel selectieve bodems gebruikt die antibiotica bevatten.

Het gebruik van de filtratiemethode laat toe om de opkomst vast te stellen van andere *Campylobacter* species dan *C. jejuni* en *C. coli* die gevoelig zijn aan de antibiotica die aanwezig zijn in de selectieve bodems en/of geïnhibeerd worden op 42°C.

Om deze *Campylobacter* te isoleren, wordt aangeraden om een kweek door middel van passieve filtratie uit te voeren. De cultuurbodem wordt bedekt met een acetaatcellulosefilter met poriën van 0.45 tot 0.65 µm. Vervolgens brengt men op het oppervlak van de filter enkele druppels van een fecesuspensie aan en plaatst men de bodem gedurende een half uur in een gewone broedstoof op 35°C. Dankzij hun snelle bewegingen en geringe omvang (0,2 à 0,4 µm) wringen de *Campylobacter* zich doorheen de filter. De filter wordt verwijderd en de bodem wordt vervolgens geïncubeerd in een microaërofiële omgeving op 37°C.

Identificatie

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

De verdachte kolonies worden geïdentificeerd met behulp van volgende technieken: oxydase, katalase, hippuraathydrolyse, groei op 25°C en op 42°C.

De gevoeligheid aan nalidixinezuur en cefalotine wordt minder en minder gebruikt wegens de toename van de resistentie aan chinolones en de aanwezigheid van cefalosporines in sommige cultuurmedia.

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

Tabel: Biochemische kenmerken van de voornaamste *Campylobacter* spp. die uit stoelgang geïsoleerd worden.

	<i>C. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	<i>C. concisus</i>	<i>C. jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	<i>C. jejuni</i> subsp. <i>doylei</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>
Groei op 25°C/42°C	+/V	-/+	-/+	-/w	-/+	-/+	-/+
Katalase	+	-	+	V	+	+	-/w
Hydrolyse van hippuraat	-	-	+	+	-	-	-
Gevoeligheid aan: nalidixinezuur ^a	R	R	V	S	S	R ^b	S
cefalotine	S	V	R	R	R ^c	R	S

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

^aDe toename van de resistentie van *Campylobacter* tegen chinolones maakt deze test minder bruikbaar.

^bUrease-positieve subgroup (UPTC), zijn gevoelig aan nalidixinezuur.

^cSommige stammen zijn gevoelig

We moeten echter wel opmerken dat vermits *Campylobacter* biochemisch weinig reactief zijn in vergelijking met andere bacteriën, het gebruik van deze identificatietabellen in 5% van de gevallen een foutieve identificatie oplevert in vergelijking met de moleculaire biologie³. Deze laatste is de aanbevolen techniek in geval van isolatie uit steriele lokalisaties.

Antibiogram

De toename van de resistentie van *Campylobacter* tegen antibiotica, verplicht de laboratoria een antibiogram uit te voeren telkens een antibiotica-therapie aangewezen is.

In België, bedroeg in 2007 de resistentie van de stammen die in het referentielaboratorium geïsoleerd werden 49,8% voor ciprofloxacine. De resistentie van *C. jejuni* tegen erythromycine werd minder frequent vast gesteld (5,2% van de gevallen).¹

RESISTANCE OF *CAMPYLOBACTER* IN BELGIUM
FECAL ISOLATES, TREND FROM 2001 TILL 2007 BASED ON DATA FROM THE NATIONAL REFERENCE CENTER
(OLIVIER VANDENBERG, LABORATORY FOR MICROBIOLOGY, SAINT-PIERRE UNIVERSITY HOSPITAL, BRUSSELS)

ANTIMICROBIAL AGENT	2001 N = 280	2002 N = 266	2003 N = 212	2004 N = 291	2005 N = 260	2006 N = 246	2007 N = 263
	% RESISTANT	% RESISTANT	% RESISTANT	% RESISTANT	% RESISTANT	% RESISTANT	% RESISTANT
Ampicillin	13,9	15,8	16,0	29,2	32,3	51,6	57,4
Erythromycin.	3,2	0,0	9,4	6,5	6,9	8,1	5,2
Ciprofloxacin	18,9	22,6	24,5	28,1	33,1	50,4	49,8

Trends of antimicrobial resistance of *Campylobacter* strains isolated in two laboratories serving the Brugmann, Queen Fabiola, Bordet and Saint-Pierre University Hospitals located in Brussels, Belgium from January 2001 to 2007. Antimicrobial susceptibility testing was realized by disk diffusion methods following the SFM recommendations.

Hoewel *C. fetus* en andere *Campylobacter* gevoelig zijn aan de β -lactams, zijn *C. jejuni* en *C. coli* resistent tegen de meeste antibiotica van deze klasse, met inbegrip van de cefalosporines, die dus niet getest moeten worden.⁴ We moeten opmerken dat alle *Campylobacter* een natuurlijke resistentie vertonen tegen trimethoprim en dus ook tegen trimethoprim-sulfamethoxazole

De in vitro bepaling van de gevoeligheid van *Campylobacter* tegen antibiotica is nog steeds niet gestandaardiseerd. Deze werd beschreven in het voorgaande commentaar.

Voor ernstige infecties door *Campylobacter*, kan de bepaling van de minimale inhibitorische concentratie (MIC) gemakkelijk uitgevoerd worden met de E-test. We moeten nochtans opmerken dat deze methode waarden oplevert die iets lager zijn dan de MIC die bekomen worden met de agar-dilutiemethode en dat ze evenmin gestandaardiseerd is⁵.

O. Vandenberg en A. Dediste
CHU Saint-Pierre, Bruxelles

REFERENTIES

1. Ducoffre G. Annual report on the surveillance of infectious diseases by the sentinel laboratories 2000 and the epidemiological trends 1983-1999. (Available in French and Dutch). Brussels: Institute of Public Health; 2001; IPH/EPI reports Nr 2001 - 018.
2. Anders BJ, Lauer BA, Paisley JW, Reller LB. Double-blind placebo controlled trial of erythromycin for treatment of *Campylobacter* enteritis. *Lancet* 1982;16:131-2.
3. Debruyne L, Samyn E, De Brandt E, Vandenberg O, Heyndrickx M, Vandamme P. Comparative performance of different PCR assays for the identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Res Microbiol*. 2008;159:88-93
4. Tajada P, Gomez-Graces JL, Alos JI, Balas D, Cogollos R. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* to 12 beta-lactam agents and combinations with beta-lactamase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:1924-5
5. Ge B, Bodeis S, Walker RD, White DG, Zhao S, McDermott PF, Meng J. Comparison of the Etest and agar dilution for in vitro antimicrobial susceptibility testing of *Campylobacter*. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50:487-94

Cultuur M/8519 *Salmonella* Derby (pare labo's) of afwezigheid van pathogenen (H₂S positieve *E. coli*) (onpare labo's)

Laboratoria met een even erkenningsnummer ontvingen een *Salmonella* Derby; laboratoria met een oneven erkenningsnummer ontvingen een staal dat geen pathogenen bevatte (doch enkel een H₂S positieve *E. coli*).

Binnen de "pare" groep van laboratoria leverde de identificatie van *Salmonella* tot op speciesniveau geen problemen op voor de overgrote meerderheid van deze laboratoria.

Binnen de "onpare" groep was opvallend dat ongeveer één derde van deze laboratoria *Salmonella* antwoordde. Gezien de meerderheid van de laboratoria die de H₂S positieve *E. coli* foutief als *Salmonella* identificeerden gebruik maakten van API 20 E en/of Vitek 2, hebben wij de stam aan de firma bioMérieux bezorgd die bijkomende onderzoeken verricht. De identificatie van deze stam als *E. coli* werd gecontroleerd door de leden van het expertencomité en is daarenboven ons bevestigd door het referentiecentrum voor *Salmonella* en *Shigella* (met 2 verschillende technieken) en door één der leden van het expertencomité via sequencing. Van zodra de resultaten van het onderzoek van bioMérieux bekend zijn, zullen we u deze meedelen.

III. RESULTATEN VAN DE IDENTIFICATIES (N = 183)

De correcte of aanvaardbare resultaten zijn onderlijnd.

3.1 Cultuur M/8065 *Streptococcus pneumoniae* (sputum)

<u><i>Streptococcus pneumoniae</i></u>	181 (98.9%)
<u><i>Pneumokok</i></u>	2 (1.1%)

3.2. Cultuur M/8114 *Escherichia coli* (hemocultuur)

<u><i>Escherichia coli</i></u>	182 (99.5%)
Naar gespecialiseerd laboratorium	1

NB 1 laboratorium vermeldde dat de stam ESBL negatief was; 2 laboratoria vermeldden 2 verschillende fenotypes vast gesteld te hebben

3.3 Cultuur M/8319 *Campylobacter coli* (stoelgang)

<u><i>Campylobacter species</i></u>	106 (57.9%)
<u><i>Campylobacter coli</i></u>	35 (19.1%)
<u><i>Campylobacter jejuni/coli</i></u>	3 (1.6%)
<i>Campylobacter jejuni</i>	21
<i>Campylobacter jejuni jejuni</i>	2
Afwezigheid van pathogenen	5
Geen groei	2
<i>Salmonella species</i>	2
<i>Salmonella groep B</i>	1
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	1
<i>Escherichia coli</i> O114 K90	1
<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	1
<i>Aeromonas species</i>	1
<i>Bacillus species</i>	1
Naar gespecialiseerd laboratorium	1

3.4 Cultuur M/8519 *Salmonella Derby* (labo's met even erkenningsnummer) of Afwezigheid van pathogenen (labo's met oneven erkenningsnummer) (stoelgang).

Labo's met even erkenningsnummer (N = 106)

<u>Salmonella species</u>	68 (64.2%)
<u>Salmonella groep B</u>	16 (15.1%)
<u>Salmonella group</u>	3 (2.8%)
<u>Salmonella enterica</u>	7
<u>Salmonella enterica ssp enterica</u>	1
<i>Salmonella enterica ssp arizonae</i>	1
<i>Salmonella arizonae</i>	2
<i>Salmonella typhimurium</i>	2
<i>Salmonella enteritidis</i>	1
<i>Salmonella paratyphi B</i>	1
<i>Salmonella groep E/G</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	1
<i>Campylobacter coli</i>	1
Afwezigheid van pathogenen	1

Labo's met oneven erkenningsnummer (N = 77)

<u>Afwezigheid van pathogenen</u>	39 (50.6%)
Negatief (<i>Escherichia coli</i>)	1
H ₂ S positieve <i>Escherichia coli</i>	3
<i>Escherichia coli</i>	1
<i>Escherichia coli</i> SMAC -	1
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	1
<i>Escherichia coli</i> O103:H11	1
<i>Salmonella species</i>	12
<i>Salmonella enterica ssp arizonae</i>	7
<i>Salmonella arizonae</i>	3
<i>Salmonella enterica</i>	1
<i>Salmonella arizonae</i> /EPEC	1
<i>Campylobacter species</i>	2
<i>Yersinia enterocolitica</i> O:3	1
Staal door te sturen voor bepaling van shigatoxines verschillend van <i>Escherichia coli</i> O157	1
Geen groei	1
Naar gespecialiseerd laboratorium	1

Opmerking

Wij hebben vastgesteld dat er nog steeds laboratoria zijn die de stammen van de EKE doorsturen naar het referentielaboratorium, ondanks onze aanbevelingen dit niet te doen. Wij willen nogmaals met aandrang verzoeken om de stalen van de EKE **NIET** naar het referentiecentrum te sturen: niet alleen is dit zinloos vanuit het standpunt van de EKE, maar bovendien vormt het een bijkomende belasting voor het referentiecentrum en vervalst het hun epidemiologische gegevens.

IV. ANTIBIOGRAM

Een algemeen overzicht van de resultaten per staal wordt gegeven bij het begin van de bespreking van ieder staal. In de verdere verwerking worden de resultaten geanalyseerd naargelang de methode.

Het type antibiogram werd opgesteld op basis van resultaten van de verschillende experten.

4.1 Cultuur M/8065 (*Streptococcus pneumoniae*)

Aantal deelnemers = 181

Het aantal deelnemers is lager dan het aantal antwoorden voor de identificaties aangezien één laboratorium van een diagnostische firma enkel de identificatie bepaalde en geen antibiogram uitvoerde en een laboratorium dat de stam als *S. pneumoniae* identificeerde deze stam voor bepaling van het antibiogram zou doorsturen naar een referentielaboratorium.

Niet alle deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor alle antibiotica. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor meer dan één chinolone. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid met meer dan 1 methode; voor staal M/8065 kwamen deze resultaten in alle gevallen overeen.

Tabel 4.1.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Aantal resultaten	S	S/I	I	R	*
Penicilline	S	176	172	-	2	1	1 ¹
Erythromycine	S	174	170	1	1	1	1 ¹
Clarithromycine ²	S	2	2	-	-	-	-
Clindamycine	S	112	111	-	1	-	-
Tetracycline	S	136	133	-	-	2	1 ¹
Doxycycline ³	S	20	20	-	-	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	S	27	24	-	2	1	-
Gatifloxacin	S	1	1	-	-	-	-
Levofloxacin	S	49	49	-	-	-	-
Moxifloxacin	S	68	68	-	-	-	-
Norfloxacin	S	2	-	-	-	2	-
Ofloxacin	S	33	31	-	1	-	1 ¹
Sparfloxacin	S	1	1	-	-	-	-
"Chinolone" ⁴	S	2	2	-	-	-	-

¹ Een laboratorium gaf wel de MIC-waarden voor penicilline, erythromycine, tetracycline en ofloxacin maar geen kwalitatieve interpretatie.

- ² Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor clarithromycine in plaats van voor erythromycine.
- ³ Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor doxycycline in plaats van voor tetracycline.
- ⁴ Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

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

Niet alle deelnemers vermeldde de gebruikte methode of lading. Voor zover deze aangegeven werd door de deelnemers, hebben wij voor de schijfjesmethode met de papieren schijfjes of Neosensitabs schijfjes mediaan, minimum en maximum diameter bepaald. Sommige deelnemers vermeldde een andere lading dan de aangewezen lading of vermeldde de lading niet; deze laboratoria werden niet in de berekening der medianen, minimum en maximum opgenomen.

De resultaten van de laboratoria die de Osiris gebruikt hebben om de diameters van de papieren schijfjes af te lezen vindt u in tabel 4.1.8.

Tabel 4.1.2. Bekomen diameters met de papieren schijfjes volgens CLSI voor staal M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (μg /schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Penicilline	(32)				31	-	-	1 ¹
	20	Oxa 1 ²	25	21 - 32	19	-	-	1 ¹
	3	6 ³	32	32 - 40	3	-	-	-
	4	10 ³	32	30 - 40	4	-	-	-
Erythromycine	29 (32)	15	26	22 - 38	32	-	-	-
Clarithromycine	2 (2)	15	26	25 - 27	2	-	-	-
Clindamycine	29 (32)	2	23	18 - 34	31	1	-	-
Tetracycline	23 (27)	30	27	23 - 35	27	-	-	-
Doxycycline	3 (3)	30	34	23 - 34	3	-	-	-
Chinolones								
Ciprofloxacin	6 (7)	5	20	15 - 20	5	1	1	-
Levofloxacin	4 (5)	5	23	19 - 25	5	-	-	-
Moxifloxacin	12 (13)	5	25	19 - 32	13	-	-	-
Ofloxacin	8 (8)	5	18	16 - 22	8	-	-	-

¹ Eén laboratorium gaf wel de bekomen diameter door maar verwees voor het resultaat naar het resultaat van de E-test ("S").

² De meeste gebruikers van deze techniek hebben de gevoeligheid voor penicilline bepaald aan de hand van het oxacilline-schijfje van $1\mu\text{g}$ /schijfje. Eén van deze laboratoria antwoordde een diameter > 20 mm.

³ Enkele laboratoria hebben de penicillineschijfjes met een lading van 6 of 10 U/schijfje gebruikt.

Voor de Neosensitabs schijfjes zijn er nu 2 ladingen beschikbaar: de "Neosensitabs-ladingen" ("old", met de ROSCO richtlijnen) en de "CLSI-ladingen" ("new", waarbij de CLSI richtlijnen gevolgd dienen te worden). U vindt de resultaten in tabellen 4.1.3. a en b. De resultaten van de laboratoria die de Sirscan gebruikt hebben om de diameters van deze schijfjes af te lezen vindt u in tabellen 4.1.9 a en b.

Tabel 4.1.3.a. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (Neosensitabs ladingen) voor staal M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (μg /schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	S/I	I	R
Penicilline ¹	(47)				47	-	-	-
	24	Oxa 1 ²	29	20 - 32	24	-	-	-
	15	5 ³	38	30 - 42	15	-	-	-
Erythromycine ⁴	44 (54)	78	32	20 - 43	52	1	1	-
Clindamycine ⁵	38 (47)	25	32	25 - 47	47	-	-	-
Tetracycline ⁶	24 (37)	80	34	26 - 42	36	-	-	1
Doxycycline ⁷	10 (11)	80	31	28 - 38	11	-	-	-
Chinolones								
Ciprofloxacin ⁸	13 (15)	10	25	20 - 36	15	-	-	-
Levofloxacin	9 (10)	5	24	21 - 28	10	-	-	-
Moxifloxacin ⁹	11 (15)	5	26	20 - 50	15	-	-	-
Norfloxacin	1 (1)	10	13	13 - 13	-	-	-	1
Ofloxacin ¹⁰	10 (11)	10	22	20 - 25	11	-	-	-
Chinolone	- (1)	-	-	-	1	-	-	-

¹ Voor het oxacillineschijfje met lading 1 μg heeft tevens 1 laboratorium een diameter > 20 mm. geantwoord en 1 een diameter > 30 mm. Voor het penicillineschijfje met lading 5 U hebben 2 laboratoria een diameter > 30 mm. geantwoord.

² De meeste gebruikers van deze techniek hebben de gevoeligheid voor penicilline bepaald aan de hand van het oxacilline-schijfje van 1 μg /schijfje.

³ Enkele laboratoria hebben de penicillineschijfjes met een lading van 5 U/schijfje gebruikt.

⁴ Tevens heeft één laboratorium een diameter > 28 mm. geantwoord en 3 laboratoria een diameter > 30 mm.

⁵ Tevens heeft één laboratorium een diameter > 28 mm. geantwoord en 4 laboratoria een diameter > 30 mm.

⁶ Tevens hebben 3 laboratoria een diameter > 30 mm. geantwoord. Het laboratorium dat "R" antwoordde, stelde een doorgroei in de gevoelige zone vast na 24h.

⁷ Tevens heeft één laboratorium een diameter > 26 mm. geantwoord.

⁸ Tevens heeft één laboratorium een diameter > 30 mm. geantwoord.

⁹ Tevens heeft één laboratorium een diameter > 18 mm. geantwoord.

¹⁰ Tevens heeft één laboratorium een diameter > 30 mm. geantwoord.

Tabel 4.1.3.b. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (CLSI ladingen) voor staal M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (μg /schijfje)	Mediane diameter	Grenswaar-den diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline	(5)				5	-	-
	3	Oxa ¹	32	27 - 36	3	-	-
	2	10 ²	36	32 - 40	2	-	-
Erythromycine	7 (7)	15	28	22 - 34	7	-	-
Clindamycine	6 (6)	2	24	21 - 32	6	-	-
Tetracycline	2 (2)	30	29	26 - 32	2	-	-
Doxycycline	3 (3)	30	30	29 - 36	3	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	1 (1)	5	22	22 - 22	1	-	-
Levofloxacin	1 (1)	5	22	22 - 22	1	-	-
Moxifloxacin	2 (2)	5	29	28 - 30	2	-	-
Norfloxacin	1 (1)	10	12	12 - 12	-	-	1
Ofloxacin	1 (1)	5	18	18 - 18	1	-	-

¹ De meeste gebruikers van deze techniek hebben de gevoeligheid voor penicilline bepaald aan de hand van het oxacilline-schijfje van 1 μg /schijfje.

² Enkele laboratoria hebben de penicillineschijfjes met een lading van 10 U/schijfje gebruikt.

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/8065 (*S. pneumoniae*).

MIC (mg/l)														Resultaat		
Aantal resultaten	*	<0.06	0.004	0.008	0.016	0.032	0.064	0.125	0.25	0.5	1	2		S	I	R
			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
			0.008	0.016	0.032	0.064	0.125	0.25	0.5	1	2	4				
Penicilline	32	1	2	1	7	11	6	4						32	-	-
Erythromycine	6							2	3	1				6	-	-
Clindamycine	1									1				1	-	-
Tetracycline	1							1						1	-	-
Chinolones																
Levofloxacin	1											1		1	-	-
Moxifloxacin	2								1	1				2	-	-
Ofloxacin	1												1	1	-	-

* MIC-waarde niet vermeld.

Ter gelegenheid van deze enquête hebben eveneens 3 laboratoria de MIC-waarde voor penicilline bepaald met de MIC-Evaluators (MICE); alle 3 bekwamen een gevoelig resultaat met MIC-waarden van respectievelijk 0.012, 0.023 en 0.032 mg/l.

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/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Vitek 2						Vitek 2 compact					
	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde			Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde		
	S	I	R	*	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)		S	I	R	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)		
Penicilline	43	1	-	1	≤ 0.06	39 (45)	11	-	-	≤ 0.06	9 (11)	
Erythromycine	43	-	1	1	≤ 0.06	38 (45)	14	-	-	≤ 0.06	10 (14)	
Clindamycine	3	-	-	-	≤ 0.25	1 (3)	1	-	-	-	- (1)	
Tetracycline	44	-	1	1	≤ 1	44 (46)	14	-	-	≤ 1	11 (14)	
Chinolones												
Ciprofloxacin	1	-	-	-	-	- (1)	-	-	-	-	-	
Gatifloxacin	1	-	-	-	≤ 0.5	1 (1)	-	-	-	-	-	
Levofloxacin	15	-	-	-	≤ 0.5	11 (15)	7	-	-	≤ 0.5	5 (7)	
Moxifloxacin	23	-	-	-	≤ 0.25	22 (23)	6	-	-	≤ 0.25	5 (6)	
Ofloxacin	9	1	-	1	≤ 0.2	7 (11)	1	-	-	≤ 1	1 (1)	
Sparfloxacin	1	-	-	-	≤ 0.12	1 (1)	-	-	-	-	-	
"Chinolone"	1	-	-	-	≤ 1	1 (1)	-	-	-	-	-	

* Eén laboratorium gaf wel de MIC-waarden voor penicilline, erythromycine, tetracycline en ofloxacin maar geen kwalitatieve interpretatie.

In de meeste gevallen is de "meest vermelde MIC waarde" de enige die vermeld werd door de deelnemers; een aantal laboratoria vermeldten immers de gevonden MIC waarde niet. In enkele gevallen werden ook andere waarden gerapporteerd :

- voor penicilline vond 1 laboratorium een MIC van 0.12 mg/l met Vitek 2
- voor erythromycine vond 1 laboratorium een MIC van 0.12 mg/l met Vitek 2 en 1 laboratorium een MIC ≥ 1 mg/l met Vitek 2 (dit laatste is het laboratorium dat "R" antwoordde); voor Vitek 2 compact vond 1 laboratorium een MIC ≤ 1 mg/l en 1 een MIC < 0.25 mg/l
- voor tetracycline vond 1 deelnemer een MIC ≤ 10 mg/l met Vitek 2 en 1 laboratorium een MIC van 2 mg/l met Vitek 2 (dit laatste is het laboratorium dat "R" antwoordde); met Vitek 2 compact vond eveneens één laboratorium een MIC van 2 mg/l (en antwoordde "S")
- voor levofloxacin vonden 3 laboratoria met Vitek 2 en 2 laboratoria met Vitek 2 compact een MIC van 1 mg/l
- voor ofloxacin vond 1 laboratorium een MIC ≤ 1 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 staal M/8065 (*S. pneumoniae*)

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Penicilline	4	1	1
Erythromycine	6	-	-
Clindamycine	9	-	-
Tetracycline	6	-	-
Chinolones			
Levofloxacin	5	-	-

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.1.7.

Tabel 4.1.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Resultaat			Meest vermelde MIC waarde	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Penicilline	6	-	-	≤ 0.0312	4 (6)
Erythromycine	6	-	-	≤ 0.0625	4 (6)
Clindamycine	6	-	-	≤ 0.0312	3 (6)
Tetracycline	6	-	-	≤ 0.5	4 (6)
Chinolones					
Levofloxacin	3	-	-	1 en ≤ 0.5	1 en 1 (3)
Moxifloxacin	3	-	-	≤ 0.25	2 (3)

Voor clindamycine was er tevens 1 laboratorium dat een MIC ≤ 0.0625 mg/l vermeldde.

De resultaten bekomen met de toestellen Osiris en Sirscan worden weergegeven in tabellen 4.1.8. en 4.1.9 a en b. Gezien alle deelnemers die deze afleestoestellen (Osiris voor de papieren schijfjes en Sirscan voor de Neosensitabs disks) gebruiken, de diameters rapporteren, geven wij in volgende tabellen de medianen, minima en maxima van deze diameters weer.

Tabel 4.1.8. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (μg /schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline	(7)				7	-	-
	2	Oxa ¹	26	25 - 26	2	-	-
	1	6 ²	35	35 - 35	1	-	-
	2	10 ²	35	35 - 35	2	-	-
Erythromycine	7 (7)	15	33	24 - 35	7	-	-
Clindamycine	6 (6)	2	29	23 - 35	6	-	-
Tetracycline	4 (4)	30	32	27 - 35	4	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	1 (1)	5	29	29 - 29	1	-	-
Levofloxacin	3 (3)	5	22	20 - 25	3	-	-
Moxifloxacin	2 (2)	5 en 10 ³	-	-	2	-	-
Ofloxacin	1	5	21	21 - 21	1	-	-

¹ Een aantal gebruikers van deze techniek hebben de gevoeligheid voor penicilline bepaald aan de hand van het oxacilline-schijfje van 1 μg /schijfje. Eén van deze laboratoria antwoordde een diameter > 20 mm.

² Enkele laboratoria hebben de penicillineschijfjes met een lading van 6 of 10 U/schijfje gebruikt.

³ De beide laboratoria vermeldden een verschillende lading.

Tabel 4.1.9.a. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (Neosensitabs ladingen) voor staal M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ($\mu\text{g/schijfje}$)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline	3 (4)	Oxa 1	24	23 - 32	4	-	-
Erythromycine	5 (5)	78	29	26 - 36	5	-	-
Clindamycine	2 (3)	25	28.5	26 - 31	3	-	-
Doxycycline	1 (1)	80	36	36 - 36	1	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	1 (1)	10	28	28 - 28	1	-	-
Levofloxacin	- (1)	-	-	-	1	-	-
Moxifloxacin	2 (2)	5	26.5	26 - 27	2	-	-

Tabel 4.1.9.b. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (CLSI ladingen) voor staal M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ($\mu\text{g/schijfje}$)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline	2 (2)	10	44.5	43 - 46	2	-	-
Erythromycine	2 (2)	15	30.5	24 - 37	2	-	-
Clindamycine	1 (1)	2	33	33 - 33	1	-	-
Doxycycline	2 (2)	30	33	29 - 37	2	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	2 (2)	5	24	20 - 28	1	1	-

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:

- Penicilline:
 - o $I \rightarrow R$
 - ATB: 1 labo
- Tetracycline:
 - o $S \rightarrow R$
 - Vitek 2: 1 labo
- Ofloxacin
 - o $S \rightarrow I$
 - Vitek 2: 1 labo

4.2 Cultuur M/8114 (*Escherichia coli*)

Aantal deelnemers = 181

Het aantal deelnemers is lager dan het aantal antwoorden voor de identificaties aangezien één laboratorium van een diagnostische firma enkel de identificatie bepaalde en geen antibiogram uitvoerde en het laboratorium dat deze stam ook voor bepaling van de identificatie doorstuurt uiteraard geen antibiogram bepaalde. Niet alle deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor alle antibiotica. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor meer dan één chinolone. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid met meer dan 1 methode; meestal kwamen deze resultaten overeen; waar dit niet het geval was, werd er, voor zover de laboratoria geen voorkeur uitspraken, geopteerd om in onderstaande tabel het meest resistente resultaat weer te geven.

Tabel 4.2.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/8114 (*E. coli*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Aantal resultaten	S	I	R
Ampicilline	I/R	175	2	69	104
Amoxicilline ¹	I/R	3	-	1	2
Amoxicilline-clavulaanzuur	S/I	181	58	109	14
Amikacine	S	178	178	-	-
Gentamicine	S	161	159	2	-
Cefuroxime	S	179	177	2	-
Cefotaxime	S	152	152	-	-
Ceftriaxone ²	S	10	10	-	-
Trimethoprim-Sulfamethoxazol	S	177	177	-	-
Imipenem	S	70	70	-	-
Meropenem ³	S	58	58	-	-
Chinolones					
Ciprofloxacin	S	136	136	-	-
Levofloxacin	S	27	27	-	-
Moxifloxacin	S	1	1	-	-
Norfloxacin	S	10	10	-	-
Ofloxacin	S	17	17	-	-
"Chinolone" ⁴	S	3	3	-	-

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

² Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor ceftriaxone in plaats van voor cefotaxime.

³ Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor meropenem in plaats van voor imipenem.

⁴ Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

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

Niet alle deelnemers vermeldde de gebruikte methode of lading. Voor zover deze aangegeven werd door de deelnemers, hebben wij voor de schijfjesmethode met de papieren schijfjes of Neosensitabs schijfjes mediaan, minimum en maximum diameter bepaald. Sommige deelnemers vermeldde een andere lading dan de aangewezen lading of vermeldde de lading niet; deze laboratoria werden niet in de berekening der medianen, minimum en maximum opgenomen.

De resultaten van de laboratoria die de Osiris gebruikt hebben om de diameters van de papieren schijfjes af te lezen vindt u in tabel 4.2.8.

Tabel 4.2.2. Bekomen diameters met de papieren schijfjes volgens CLSI voor staal M/8114 (*E. coli*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (μg /schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	24 (27)	10	10	6 - 14	-	1	26
Amoxicilline-clavulaanzuur	25 (27)	20+10	17	7 - 21	10	12	5
Amikacine	22 (25)	30	23	18 - 26	25	-	-
Gentamicine	19 (24)	10	21	18 - 25	24	-	-
Cefuroxime	24 (26)	30	23	15 - 26	25	1	-
Cefotaxime	19 (22)	30	33	24 - 38	22	-	-
Trimethoprim-Sulfamethoxazol	25 (28)	1.25+23.75	27	20 - 32	28	-	-
Imipenem	9 (10)	10	30	21 - 32	10	-	-
Meropenem	9 (10)	10	30	20 - 37	10	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	17 (19)	5	33	28 - 40	19	-	-
Levofloxacin	5 (5)	5	30	25 - 35	5	-	-
Norfloxacin	1 (1)	10	38	38 - 38	1	-	-
Ofloxacin	3 (3)	5	31	28 - 34	3	-	-

Voor de Neosensitabs schijfjes zijn er nu 2 ladingen beschikbaar: de "Neosensitabs-ladingen" ("old", met de ROSCO richtlijnen) en de "CLSI-ladingen" ("new", waarbij de CLSI richtlijnen gevolgd dienen te worden). U vindt de resultaten in tabellen 4.2.3. a en b. De resultaten van de laboratoria die de Sirscan gebruikt hebben om de diameters van deze schijfjes af te lezen vindt u in tabellen 4.2.9 a en b.

Tabel 4.2.3.a. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (Neosensitabs ladingen) voor staal M/8114 (*E. coli*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (μg /schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	28 (33)	33	17	11 - 21	2	9	22
Amoxicilline	2 (2)	30	15	12 - 18	-	1	1
Amoxicilline-clavulaanzuur	34 (36)	30+15	22	18 - 25	31	5	-
Amikacine	32 (33)	40	25	20 - 32	33	-	-
Gentamicine	26 (27)	40	27	21 - 32	25	2	-
Cefuroxime	33 (35)	60	27	22 - 34	35	-	-
Cefotaxime	22 (23)	30	36	29 - 43	23	-	-
Ceftriaxone	7 (7)	30	34	26 - 43	7	-	-
Trimethoprim-Sulfamethoxazol ¹	30 (32)	5.2+240	37	24 - 42	32	-	-
Imipenem	16 (21)	15	33	30 - 37	21	-	-
Meropenem	7 (7)	10	33	30 - 36	7	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	19 (20)	10	35	30 - 43	20	-	-
Levofloxacin	5 (5)	5	32	31 - 37	5	-	-
Norfloxacin	2 (2)	10	36	35 - 37	2	-	-
Ofloxacin	9 (9)	10	34	26 - 39	9	-	-

¹ Tevens heeft één laboratorium een diameter > 30 mm. geantwoord.

Tabel 4.2.3.b. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (CLSI ladingen) voor staal M/8114 (*E. coli*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (μg /schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	4 (4)	10	12	11 - 13	-	-	4
Amoxicilline-clavulaanzuur	5 (5)	20+10	19	18 - 22	4	1	-
Amikacine	5 (5)	30	24	20 - 25	5	-	-
Gentamicine	5 (5)	10	21	20 - 25	5	-	-
Cefuroxime	5 (5)	30	22	18 - 25	4	1	-
Cefotaxime	4 (4)	30	37	31 - 40	4	-	-
Trimethoprim-Sulfamethoxazol	4 (4)	1.25+23.75	29	26 - 30	4	-	-
Imipenem	2 (2)	10	32.5	29 - 36	2	-	-
Meropenem	1 (1)	10	35	35 - 35	1	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	1 (1)	5	30	30 - 30	1	-	-
Moxifloxacin	1 (1)	5	33	33 - 33	1	-	-
Ofloxacin	2 (2)	5	32.5	32 - 33	2	-	-

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/8114 (*E. coli*).

		MIC (mg/l)												Resultaat		
	Aantal resultaten	<0.064	0.064	0,125	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	S	I	R
			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
			0.125	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256			
Ampicilline	2										1		1	-	-	2
Amoxicilline- clavulaanzuur	4							1		1	2			1	1	2
Amikacine	2						2							2	-	-
Gentamicine	1					1								1	-	-
Cefuroxime	1							1						1	-	-
Cefotaxime	1		1											1	-	-
Trimethoprim- Sulfamethoxazol	1			1										1	-	-
Imipenem	1				1									1	-	-
Chinolones																
Ciprofloxacin	1	1												1	-	-

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

Tabel 4.2.5. Resultaten bekomen met Vitek voor staal M/8114 (*E. coli*).

Antibioticum	Vitek 2					Vitek 2 compact				
	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R			S	I	R		
Ampicilline	-	40	23	16	43 (63)	-	15	10	16	16 (25)
Amoxicilline-clavulaanzuur	1	59	4	16	57 (64)	2	19	3	16	20 (24)
Amikacine	63	-	-	≤ 2	42 (63)	24	-	-	≤ 2	18 (24)
Gentamicine	62	-	-	≤ 1	54 (62)	24	-	-	≤ 1	21 (24)
Cefuroxime	63	-	-	4	55 (63)	25	-	-	4	22 (25)
Cefotaxime	63	-	-	≤ 1	56 (63)	25	-	-	≤ 1	22 (25)
Trimethoprim-Sulfamethoxazol	63	-	-	≤ 20	56 (63)	25	-	-	≤ 20	22 (25)
Imipenem	13	-	-	≤ 0.25	4 (13)	10	-	-	≤ 0.25	5 (10)
Meropenem	25	-	-	≤ 0.25	25 (25)	9	-	-	≤ 0.25	9 (9)
Chinolones										
Ciprofloxacin	52	-	-	≤ 0.25	46 (52)	20	-	-	≤ 0.25	16 (20)
Levofloxacin	12	-	-	≤ 0.25	11 (12)	2	-	-	≤ 0.25	2 (2)
Norfloxacin	4	-	-	≤ 0.5	2 (4)	1	-	-	-	- (1)
Ofloxacin	2	-	-	≤ 0.25	2 (2)	2	-	-	≤ 0.25	2 (2)
"Chinolone"	2	-	-	≤ 0.25	2 (2)	1	-	-	≤ 0.25	1 (1)

In de meeste gevallen is de "meest vermelde MIC waarde" de enige die vermeld werd door de deelnemers; een aantal laboratoria vermeldde immers de gevonden MIC waarde niet. In enkele gevallen werden ook andere waarden gerapporteerd:

- voor ampicilline vonden 13 laboratoria met Vitek 2 en 6 laboratoria met Vitek 2 compact een MIC ≥ 32 mg/l
- voor amoxicilline-clavulaanzuur vond 1 deelnemer een MIC van 8 mg/l met Vitek 2 compact
- voor amikacine vonden 14 laboratoria met Vitek 2 en 3 laboratoria met Vitek 2 compact een MIC van 4 mg/l
- voor gentamicine vond 1 deelnemer een MIC < 16 met Vitek 2
- voor cefuroxime vond 1 deelnemer een MIC ≤ 4 met Vitek 2
- voor imipenem vond 1 deelnemer een MIC < 1 met Vitek 2 compact; voor Vitek 2 vermeldde een aantal deelnemers dat dit een afgeleid resultaat betreft

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 staal M/8114 (*E. coli*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Ampicilline	-	1	7
Amoxicilline	-	-	1
Amoxicilline-clavulaanzuur	3	5	1
Amikacine	9	-	-
Gentamicine	9	-	-
Cefuroxime	8	-	-
Cefotaxime	9	-	-
Trimethoprim- Sulfamethoxazol	9	-	-
Imipenem	10	-	-
Chinolones			
Ciprofloxacin	8	-	-
Norfloxacin	2	-	-

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.2.7.

Tabel 4.2.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/8114 (*E. coli*).

Antibioticum	Resultaat			Meest vermelde MIC waarde	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Ampicilline	-	6	3	16	6 (9)
Amoxicilline-clavulaanzuur	-	8	1	16/8	7 (9)
Amikacine	9	-	-	4	5 (9)
Gentamicine	9	-	-	≤ 2	7 (9)
Cefuroxime	9	-	-	≤ 4	7 (9)
Cefotaxime	2	-	-	< 2	1 (2)
Ceftriaxone	3	-	-	≤ 2	2 (3)
Trimethoprim- Sulfamethoxazol	9	-	-	≤ 0.5/9.5	7 (9)
Imipenem	1	-	-	-	- (1)
Meropenem	4	-	-	≤ 1	4 (4)
Chinolones					
Ciprofloxacin	9	-	-	≤ 0.15	4 (9)
Norfloxacin					

Tevens dienen we te vermelden dat:

- voor ampicilline 1 laboratorium een MIC van 32 mg/l vermeld heeft
- voor amikacine 2 laboratoria een MIC ≤ 2 mg/l vermeldden
- voor ciprofloxacin 1 laboratorium een MIC < 0.13 mg/l en 2 laboratoria een MIC ≤ 0.5 mg/l vermeldden

De resultaten bekomen met de toestellen Osiris en Sirscan worden weergegeven in tabel 4.2.8. en 4.2.9 a en b. Gezien alle deelnemers die deze afleestoestellen (Osiris voor de papieren schijfjes en Sirscan voor de Neosensitabs disks) gebruiken, de diameters rapporteren, geven wij in volgende tabellen de medianen, minima en maxima van deze diameters weer.

Tabel 4.2.8. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/8114 (*E. coli*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ($\mu\text{g/schijfje}$)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	7 (7)	10	9	8 - 12	-	-	7
Amoxicilline-clavulaanzuur	7 (7)	20+10	17	16 - 19	3	4	-
Amikacine	7 (7)	30	23	18 - 26	7	-	-
Gentamicine	2 (2)	10	22	22 - 22	2	-	-
Cefuroxime	7 (7)	30	23	19 - 24	7	-	-
Cefotaxime	5 (5)	30	30	29 - 35	5	-	-
Trimethoprim-Sulfamethoxazol	7 (7)	1.25+23.75	25	21 - 31	7	-	-
Imipenem	3 (3)	10	32	28 - 32	3	-	-
Meropenem	2 (2)	10	35	35 - 35	2	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	4 (4)	5	35	32 - 35	4	-	-
Levofloxacin	3 (3)	5	35	32 - 35	3	-	-

Tabel 4.2.9.a. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (Neosensitabs ladingen) voor staal M/8114 (*E. coli*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ($\mu\text{g/schijfje}$)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	5 (5)	33	18	16 - 20	1	1	3
Amoxicilline-clavulaanzuur	5 (5)	30+15	23	22 - 23	5	-	-
Amikacine	5 (5)	40	27	26 - 29	5	-	-
Gentamicine	2 (2)	40	32	30 - 34	2	-	-
Cefuroxime	5 (5)	60	28	27 - 31	5	-	-
Cefotaxime	2 (2)	30	36.5	35 - 38	2	-	-
Trimethoprim-Sulfamethoxazol	5 (5)	5.2+240	38	31 - 43	5	-	-
Meropenem	2 (2)	10	36.5	36 - 37	2	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	4 (4)	10	41	37 - 43	4	-	-
Levofloxacin	1 (1)	5	34	34 - 34	1	-	-

Tabel 4.2.9.b. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (CLSI ladingen) voor staal M/8114 (*E. coli*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ($\mu\text{g/schijfje}$)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	2 (2)	10	11.5	9 - 14	-	-	2
Amoxicilline-clavulaanzuur	3 (3)	20+10	20	18 - 22	3	-	-
Amikacine	3 (3)	30	24	19 - 25	3	-	-
Gentamicine	2 (2)	10	26	26 - 26	2	-	-
Cefuroxime	3 (3)	30	22	20 - 24	3	-	-
Cefotaxime	3 (3)	30	36	36 - 37	3	-	-
Trimethoprim-Sulfamethoxazol	2 (2)	1.25+23.75	29.5	27 - 32	2	-	-
Imipenem	1 (1)	10	43	43 - 43	1	-	-
Meropenem	1 (1)	10	35	35 - 35	1	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	2 (2)	5	36.5	35 - 38	2	-	-
Levofloxacin	1 (1)	5	36	36 - 36	1	-	-

Tot slot dient vermeld dat 1 (buitenlands) laboratorium de gevoeligheid voor het volledige antibiotica-panel bepaalde met Microscan walkaway.

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:
 - o I→R
 - Rosco (Neosensitabs ladingen): 3 labo's
 - Vitek 2: 9 labo's
 - Vitek 2 compact: 3 labo's
 - Phoenix: 2 labo's
 - Sirscan (Neosensitabs ladingen): 2 labo's
 - Sirscan (CLSI ladingen): 1 labo
- levofloxacin:
 - o S→I
 - Rosco (CLSI ladingen): 1 labo
 - o S→R
 - Papieren schijfjes: 1 labo
 - o I→R
 - Vitek 2: 3 labo's
 - Vitek 2 compact: 3 labo's
 - ATB: 1 labo
 - Phoenix: 1 labo
 - o I→S
 - Vitek 2: 1 labo (gebaseerd op het resultaat van de Rosco-schijfjes met Neosensitabs ladingen)

V. PARASITOLOGIE

5.1. De monsters

Ter gelegenheid van deze enquête werden 2 geformaliseerde fecesstalen verzonden.

Voor staal P/7434 hebben 176 laboratoria een antwoord ingestuurd; voor staal P/8315 hebben 177 laboratoria dit gedaan.

Wij willen erop aandringen dat u steeds voor alle stalen een antwoord zou insturen, ook bvb. bij vermoeden van afwezigheid van parasieten.

Het aantal toolkit gebruikers bedroeg 50.8%. Wij zouden willen vragen om zoveel mogelijk van deze antwoordmogelijkheid gebruik te maken. Bovendien een snellere verwerking, biedt de toolkit tevens het voordeel dat een aantal fouten vermeden kunnen worden: schrijffouten, gebruik van oudere codes, encodagefouten,...

De stalen waren vergezeld van volgende klinische informatie:

Staal P/7434:

"Een patiënt is sedert enkele maanden terug uit de tropen. In verband met een antropologische studie paste hij zich aan aan het leven in het dorp: liep blootsvoets, at lokaal bereide voeding, ging zich wassen in de lokale rivier."

Staal P/8315

"HIV-positieve patiënte met diarree."

Staal P/7434 bevatte eieren van *Ascaris lumbricoides*.

Staal P/8315 bevatte oöcysten van *Isospora belli*.

Wij willen herhalen dat u, ingeval van twijfel of beschadiging van een staal, in de loop van een enquête steeds een 2^e staal mag vragen.

Voor het staal P/7434 werden u eveneens enkele klinische vragen gesteld.

5.2. Resultaten

5.2.1 Staal P/7434

169 laboratoria antwoordden één parasiet, 6 laboratoria antwoordden 2 parasieten en 1 laboratorium antwoordde "afwezigheid van parasieten".

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.2.1.1. Resultaten voor staal P/7434

Resultaat	Aantal
<i>Ascaris lumbricoides</i>	172
<i>Blastocystis hominis</i>	4
<i>Strongyloides stercoralis</i>	2
<i>Endolimax nana</i>	1
<i>Entamoeba coli</i>	1
<i>Iodamoeba butschlii</i>	1
Afwezigheid van parasieten	1
Totaal	182

Het laboratorium dat *Iodamoeba butschlii* antwoordde, heeft mogelijk beide stalen verwisseld: voor staal P/8315 gaf dit laboratorium immers het antwoord *Ascaris lumbricoides*.

Alle laboratoria die 2 parasieten vermeld hebben, hebben *Ascaris lumbricoides* als 1 van beide vermeld.

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Ascaris lumbricoides* worden in volgende tabel weergegeven. Zeven laboratoria hebben 2 verschillende evolutiestadia geantwoord.

Tabel 5.2.1.2. Evolutiestadia voor *Ascaris lumbricoides* voor staal P/7434

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Onbevucht ei	126
Ei	41
Bevucht ei	12
Totaal	179

Alle laboratoria die 2 evolutiestadia geantwoord hebben, hebben de combinatie van bevrucht en onbevrucht ei geantwoord.

Hieronder vindt u een overzicht van de antwoorden op de klinische vragen over dit staal; we moeten opmerken dat niet alle laboratoria op alle vragen geantwoord hebben. De antwoorden van de laboratoria die bij de identificatie geen *A. lumbricoides* geantwoord hebben, werden niet in rekening gebracht in deze verwerking.

Een overzicht van de antwoorden op vraag welke de mogelijke risicofactoren zijn voor de transmissie van *A. lumbricoides*, vindt u in tabel 5.2.1.3. Sommige laboratoria hebben meer dan 1 risicofactor geantwoord.

Tabel 5.2.1.3. Risicofactoren voor de transmissie van *A. lumbricoides*.

Risicofactor	Aantal laboratoria
Eten van lokaal bereide voeding	167
Zich wassen in de lokale rivier	32
Blootsvoets lopen	11

Verschillende laboratoria die "zich wassen in de lokale rivier" als risicofactor vermeldde, preciseerden dat de besmetting hierbij plaatsgrijpt door het inslikken van water.

Eén van de laboratoria die "blootsvoets lopen" als risicofactor aangaf, vermeldde zijn onderliggende redenering: "Eieren moeten in de grond "matureren" gedurende enige tijd en kunnen zo via de handen (bij voetverzorging) eventueel in de mond terechtkomen."

Op de vraag of deze parasiet in de in staal P/7434 waargenomen vorm besmettelijk is voor de omgeving antwoordden 38 laboratoria "Ja" en 130 laboratoria "Neen".

De uitsplitsing naargelang het geantwoorde evolutiestadium, is weergegeven in tabel 5.2.1.4.

Tabel 5.2.1.4. Uitsplitsing van besmettelijkheid van *A. lumbricoides* naargelang geantwoorde evolutiestadium.

Evolutiestadium	« Ja »	« Neen »
Onbevruucht ei	9	108
Bevruucht ei	2	3
Bevruucht en onbevruucht ei	4	3
Ei	23	16

Twee van de laboratoria die "Ja" antwoordden voor "onbevruucht ei", verduidelijkten dit door te vermelden dat in gunstige omstandigheden, deze eieren zich in de grond tot een bevrucht ei kunnen ontwikkelen en dan besmettelijk zijn.

Op de vraag of deze parasiet al dan niet behandeling vereist, antwoordden 163 laboratoria "Ja" en 6 laboratoria "Neen".

Enkele laboratoria voegden opmerkingen toe: "behandeling ingeval van symptomatische patiënt", "in onze streken wordt behandeling steeds aangeraden", "in onze streken, behandeling omwille van hygiënische redenen", "in de veronderstelling dat er ook bevruchte eieren aanwezig kunnen zijn".

Op de vraag of deze parasiet in gematigd klimaat kan voorkomen, antwoordden 166 laboratoria "Ja" en 4 laboratoria "Neen".

Een aantal laboratoria vermeldde wel dat het voorkomen in gematigd klimaat zeldzamer is.

Commentaar op de resultaten en op de klinische vragen

De resultaten tonen aan dat bijna alle deelnemers de juiste diagnose stelden en de parasiet in de goede context plaatsten. Ik geef een kort overzicht van de epidemiologie en pathogenese van *Ascaris lumbricoides*, en ga dan in op de bespreking van de microscopische bevindingen en antwoorden op de klinische vragen.

***Ascaris lumbricoides*: de parasiet, zijn voorkomen en kliniek.**

Ascaris lumbricoides (spoelworm, roundworm) behoort taxonomisch tot de nematoden of rondwormen (verm = draad). De speciesnaam verwijst naar de gelijkenis met de regenworm (*Lumbricus terrestris*) waarmee de Romeinen hem verwarden. In termen van volksgezondheid is *A. lumbricoides* een probleem van de (sub)tropen, en wordt de worm samen met *Trichuris trichiura* (zweepworm, whipworm) en *Ancylostoma duodenale*/*Necator americanus* (mijnworm, hookworm) tot de "soil-transmitted helminths" gerekend. Men schat dat wereldwijd ongeveer 1 miljard mensen met *A. lumbricoides* besmet zijn.

A. lumbricoides is een strikt humane parasiet, die in de dunne darm leeft en een betrekkelijk korte levensduur (1 jaar) heeft. De totale lengte kan tot 40 cm bedragen en de worm is geelwit. Het wijfje produceert ongeveer 200.000 eieren per dag en bij een besmette patiënt kunnen tot 10.000 eieren per gram faeces teruggevonden worden. In een bevrucht ei dat in de buitenwereld terecht komt rijpt over een periode van 5 tot 10 dagen een larve uit. Deze blijft in het ei zitten en kan daar gedurende lange tijd (enkele jaren) overleven en infectieus blijven. Rijping van de larve wordt bevorderd door gunstige omstandigheden van temperatuur en vochtigheid, en dit is één van redenen waarom *Ascaris* frequenter (maar niet uitsluitend!) voorkomt in de (sub)tropen. Vanwege deze rijpingsfase is zelfbesmetting (zoals bij *Enterobius vermicularis*) niet mogelijk.

Bij orale inname (accidentele overdracht door besmet water, voedsel, vingernagels...) breekt het ei in de dunne darm open. De larve dringt doorheen de darmwand en bereikt via de levercirculatie de long, waar zij vervolgens opgehoest en weer ingeslikt wordt. Zij ontwikkelt in de dunne darm tot een volwassen worm. De tijdspanne van inname tot longmigratie bedraagt ongeveer 14 dagen, en de wormen zijn geslachtsrijp (met ei productie) na ongeveer 60 dagen.

Symptomen van *A. lumbricoides* infecties zijn afhankelijk van het aantal wormen waarmee de patiënt besmet is (de zgn. wormlast, "wormload"). Een exacte "drempelwaarde" van dit aantal is echter niet bekend en hangt waarschijnlijk af van de voedingstoestand van de gastheer. Vermits *A. lumbricoides* zich niet in het lichaam vermenigvuldigt (evenmin als *T. trichiura* en *A. duodenale/N. americanus*) zijn er voor die hoge wormlast herhaalde blootstellingen nodig.

Tijdens de longmigratie kan een ontsteking met sterke eosinofilie optreden die zich uit met astma-achtige symptomen. Op RX thorax kunnen wisselende infiltraten gezien worden. Kinderen zijn het meest getroffen door dit zgn. Loeffler's syndroom en herinfecties gaan gepaard met ernstiger symptomen.

Algemene symptomen door de hoge wormlast zijn meest frequent bij kinderen tussen 5 en 15 jaar in (sub)tropische landen: een hoge wormlast heeft een duidelijk negatieve impact op de voedingstoestand, fysieke en cognitieve ontwikkeling en schoolprestaties.

Daarnaast zijn er complicaties: bij hoge wormaantallen kan er een kluwen ontstaan met darmobstructie, necrose en peritonitis tot gevolg. Verder kan ook het zwervgedrag van de volwassen (mannelijke) *Ascaris* wormen tot problemen leiden, zoals appendicitis en cholestitis of pancreatitis bij obstructie van appendix of galwegen. Bij kinderen met koorts kan de volwassen worm wel eens naar de maag of dikke darm migreren en in stoelgang of braaksel teruggevonden worden.

Diagnose: het vinden van de eieren (ova) in de stoelgang.

De diagnose van *A. lumbricoides* infecties kan uiteraard gesteld worden bij het aantreffen van de volwassen worm in stoelgang of braaksel of uitzonderlijk door het aantonen van de volwassen worm bij beeldvorming (RX, echo).

In de regel zal de diagnose het meest frequent bij microscopisch onderzoek van de stoelgang gesteld worden. *Ascaris* eieren zijn erg resistent en bij de meeste symptomatische patiënten zijn ze in grote getale aanwezig zodat terugvinden geen probleem is.

Men onderscheidt bevruchte en onbevruchte eieren, welke beide in eenzelfde monster teruggevonden kunnen worden. (In tegenstelling tot

wat 2 deelnemers antwoordden, kunnen onbevuchte eieren niet uitrijpen tot bevruchte eieren).

Bevruchte eieren zijn ovaal tot rond, met afmetingen van ongeveer $60 \times 50 \mu\text{m}$. De wand bestaat uit drie lagen (denk aan de langdurige overleving), waarbij de buitenste - hobbelige - mucopolysaccharide laag bruin aankleurt door galzouten. Soms ontbreekt deze buitenlaag en zijn de eieren glad en bleek (zgn. "decorticated eggs"), in dat geval is herkenning lastiger. In eieren die lange tijd bewaard gebleven zijn (zelfs in formoloplossing!) kan men de gerijpte larve herkennen. Onbevuchte eieren vertonen een meer uitgerekt aspect ($90 \times 50 \mu\text{m}$). Hun schaal is dunner, de buitenlaag is onregelmatiger en de inhoud is amorf en korrelig. Het preparaat P7434 bevatte uitsluitend onbevuchte eieren.

Hoe kan deze patiënt zich besmet hebben?

De meeste deelnemers verwezen naar de faeco-orale overdracht en lichtten dit ook toe bij de optie "zich wassen in de rivier" (accidentele inname met water). Transcutane besmetting (op blote voeten lopen) gebeurt niet bij *A. lumbricoides*: van de "soil transmitted helminths" wordt uitsluitend de mijnworm (*Ancylostoma/Necator*) transcutaan overgedragen.

Moet deze patiënt behandeld worden?

Ook hier was de meerderheid van de antwoorden correct en de nuances in de antwoorden zijn eveneens leerrijk: ten gunste van behandeling pleiten de complicaties van het mogelijke zwerfgedrag van de volwassen worm (appendicitis, cholecystitis en pancreatitis). Hoewel de kans tot verspreiding in de omgeving via afval(water) gering is (alleen onbevuchte eieren, geen fecale compostering in onze streken) rekenen we dit argument ook als correct. Gezien de noodzakelijke rijpingsfase in de omgeving is evenwel de kans dat deze patiënt zijn huisgenoten besmet erg gering.

Mebendazole is de behandeling van keuze (contra-indicatie 1^{ste} trimester van de zwangerschap).

Besluit

Dit preparaat werd door de grote meerderheid van deelnemers correct gescoord. Enige verfijning (bevruchte versus onbevuchte eieren) is welkom en kan tot bijkomende voldoening leiden. De klinische

(postanalytische) impact van deze casus werd eveneens door de meerderheid van de deelnemers correct beoordeeld.

Foto's (met dank aan Marc Lontie, MCH Leuven en aan Idzi Potter, ITG, Antwerpen)

Jan Jacobs, ITG, Antwerpen



Figuur 1A

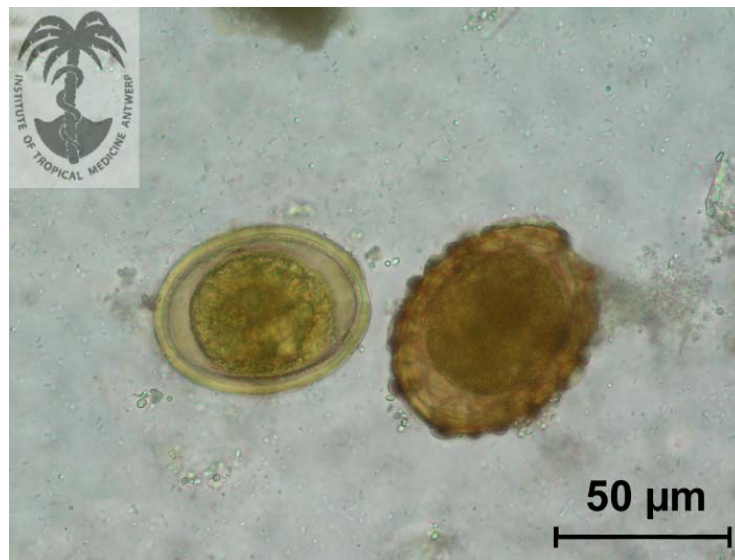


Figuur 1B

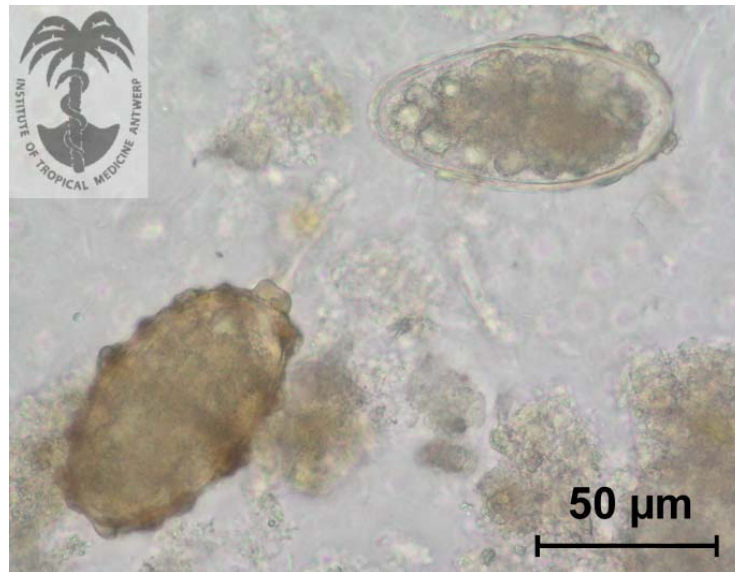


Figuur 1 C

Figuurs 1 A - C: Onbevuchte *Ascaris* eieren uit preparaat P7434



Figuur 2 : bevruchte eieren van *Ascaris*, het ei links is een "gedecorticeerd" ei, waarbij de buitenste laag ontbreekt. In dit ei kan ook een larve herkend worden. Deze larve heeft zich in de buitenwereld - en tijdens de bewaring van het staal - ontwikkeld.



Figuur 3. Onbevuchte eieren van *Ascaris lumbricoides*. Het ei rechts boven is een ei zonder buitenste laag ("gedecorticeerd"): merk op dat de typische bruine kleur hier ontbreekt, waardoor het moeilijk wordt dit ei van artefacten te onderscheiden.

REFERENTIES

1. Bethony et al. Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. Lancet 2006; 367: 1521-1532.
2. Haburchak DR. Ascariasis. Emedicine. <http://www.emedicine.com/med/topic172.htm>, accessed June 15th 2008.
3. De - leerzame en handige - website van de U.S. Centers for Disease Control and Prevention <http://www.dpd.cdc.gov/> is aan te bevelen maar is tijdelijk niet bereikbaar.

5.2.2 Staal P/8315

171 laboratoria antwoordden één parasiet, 5 laboratoria antwoordden 2 parasieten en 1 laboratorium antwoordde "afwezigheid van parasieten". De antwoorden worden in onderstaande tabel weergegeven :

Tabel 5.2.2.1. Antwoorden voor staal P/8315

Parasiet	Aantal
<i>Isospora belli</i>	163
<i>Iodamoeba butschlii</i>	10
<i>Blastocystis hominis</i>	2
<i>Cryptosporidium parvum</i>	2
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	2
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1
<i>Hymenolepis diminuta</i>	1
Afwezigheid van parasieten	1
Totaal	182

Het laboratorium dat *Ascaris lumbricoides* antwoordde, heeft mogelijk beide stalen verwisseld: voor staal P/8315 gaf dit laboratorium immers het antwoord *Iodamoeba butschlii* (in de veronderstelling dat dit laboratorium *Iodamoeba butschlii* verward heeft met *Isospora belli*). Alle laboratoria die 2 parasieten vermeld hebben, hebben *Isospora belli* als 1 van beide vermeld.

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Isospora belli* worden in volgende tabel weergegeven. Eén laboratorium heeft 2 verschillende evolutiestadia geantwoord (oöcyste en sporocyste).

Tabel 5.2.2.2. Evolutiestadia voor *Isospora belli* voor staal P/8315

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Oöcyste	141
Cyste	17
Sporocyste	4
Ei	2
Totaal	164

Commentaar op de resultaten

Staal P/8315 bevatte een *Isospora belli*. 163 van de 177 laboratoria (92.1%) die hun antwoord ingezonden hebben, hebben deze parasiet correct geïdentificeerd.

Dit invasieve protozoön behoort tot de familie van de coccidia en infecteert de epitheelcellen van de dunne darm. Het is de minst frequente van de 3 coccidia die de mens besmetten (*Cryptosporidium*, *Cyclospora* en *Isospora*). *Isospora* komt wereldwijd voor maar wordt frequenter aangetroffen in tropische en subtropische streken.

Besmetting: via inname van de rijpe oöcysten. We moeten opmerken dat de oöcysten die in de stoelgang terecht komen, ongeveer 20 dagen na de besmetting, niet onmiddellijk besmettelijk zijn, maar dat een rijpingsfase noodzakelijk is.

Incubatie: 5 à 6 dagen.

Kliniek: De parasiet veroorzaakt een enterocolitis met niet-dysenteriforme diarree die echter wel langdurig kan zijn. Bij immuungedeprimeerden kan de ziekte ernstig verlopen met gewichtsverlies, dehydratatie en ionenstoornissen. Bij deze patiënten moet, in geval van diarree, *Isospora*, net zoals *Cryptosporidium*, systematisch opgespoord worden; controle na de behandeling wordt eveneens aanbevolen.

Laboratoriumonderzoek: Opsporen van de oöcysten in de stoelgang na concentratie. Het onderzoeken van meerdere stoelgangstalen is noodzakelijk want de oöcysten worden discontinu afgescheiden. Men kan de parasiet eveneens opsporen in intestinale biopsies.

Morfologie van de oöcysten: tamelijk karakteristiek; ze bevatten een sporoblast op het moment van de excretie en twee sporoblasten na rijping. Ze zijn sterk gekorrelt en vertonen een spits en een afgerond uiteinde. Gemiddelde grootte 27 x 14 µm; ze zijn ook sterk lichtbrekend.

Cyclus van de parasiet: we verwijzen naar de uitstekende website van de CDC: <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/>

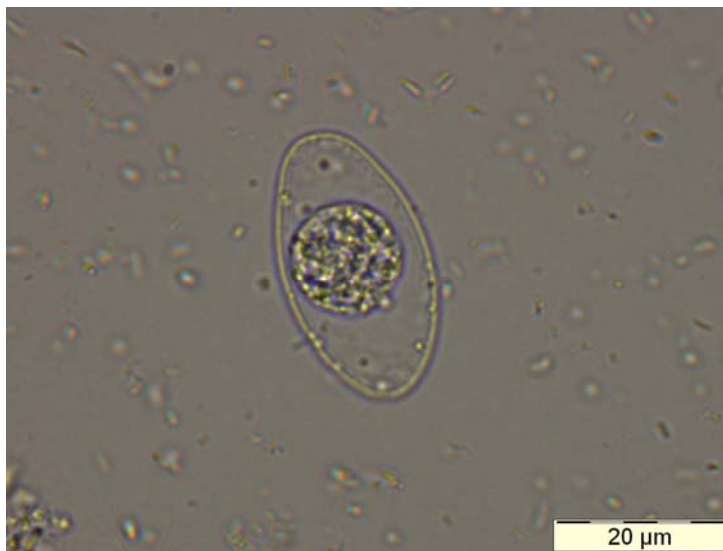
Behandeling: Bij de immuuncompetente patiënt: cotrimoxazole (800 mg/d + 160 mg/d) gedurende 10 dagen. Bij de imuungedeprimeerde patiënt: zelfde behandeling, gevolgd door een tweede kuur van 10 dagen met de helft van dosis en nadien een onderhoudsbehandeling van 400 + 80 mg/d, drie dagen per week.

Anne Dediste
Laboratoire de microbiologie des CHU St-Pierre et Institut. Bordet

REFERENTIES

1. <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/>
2. **Garcia L.** Diagnostic Medical Parasitology. ASM Press, Washington. 5th ed.2007.

Foto's 1-4: Staal P/8315, enquête 2008/2 (M. Lontie)





VI. SEROLOGIE

6.1. Beschrijving van de monsters

Er waren 2 gelyofiliseerde plasmamonster, S/7799 en S/7824 waarop antistoffen tegen Rubella bepaald dienden te worden. De interpretatie omvatte een beoordeling van beide stalen.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

"Zwangerschapswens bij patiënte die gevaccineerd werd. De stalen S/7799 en S/7824 werden afgenomen respectievelijk 1 en 2 maanden na de vaccinatie."

De verwachte resultaten en interpretaties waren:

S/7799: IgG positief, IgM borderline tot zwak positief
S/7824: IgG positief, IgM negatief

Interpretatie:

IgG Positieve IgG een maand na vaccinatie met significante stijging twee maand na vaccinatie (code 005)
IgM Positieve IgM een maand na vaccinatie met negatieve IgM in de tweede afname (code 005)

Er werden eveneens 2 stalen rondgestuurd voor de bepaling van anti-HCV antistoffen: één gelyofiliseerd staal S/4665 en één "klaar-voor-gebruik" staal S/8604.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:
" Patiënten met geelzucht"

De verwachte resultaten waren:

S/4665: AS negatief
S/8604: AS positief

6.2. Rubella

6.2.1 De deelnemers

167 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug.

We ontvingen eveneens de resultaten van 2 firmalaboratoria waarvan 1 IgG, IgM en aviditeit bepaalde en het andere de IgG.

167 laboratoria bepaalden de IgG: zowel op staal S/7799 als op staal S/7824 bepaalden 166 laboratoria de IgG met 1 test uit en 1 laboratorium met 2 testen.

154 laboratoria bepaalden de IgM: op staal S/7799 voerden 140 laboratoria hiervoor 1 test uit en 14 labo's 2 testen; op staal S/7824 bepaalden 150 laboratoria de IgM met 1 test uit en 4 laboratoria met 2 testen.

6.2.2 Gebruikte reagentia

6.2.2.1 Voor de IgG

Tabel 6.2.1.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van Rubella IgG

Fabrikant	Kit	S/7799	S/7824
Abbott	AxSYM Rubella IgG	53	53
	Architect Rubella IgG	9	9
Beckman (verdelers Analis)	Access Rubella IgG	13	13
	Unicel DxI Rubella IgG	11	11
	Synchron LXi Rubella IgG	1	1
bioMérieux	VIDAS Rub IgG II	26	26
	VIDIA Rub IgG	5	5
Dade Behring	Rubella Hemagglutination	1	1
	Inhibition Test		
DiaSorin	Liaison Rubella IgG	25	25
	ETI-RUBEK-G Plus	1	1
Roche	Niet gepreciseerd	1	1
Siemens	ADVIA Centaur Rubella IgG	15	15
	Immulate Rubella IgG	6	6
Niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd	1	1
Totaal		168	168

6.2.2.2 Voor de IgM

Tabel 6.2.2.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van Rubella IgM

Fabrikant	Kit	S/7799	S/7824
Abbott	AxSYM Rubella IgM	46	46
	Architect Rubella IgM	9	9
Beckman (verdelers Analis)	Access Rubella IgM	12	12
	Unicel DxI Rubella IgM	10	10
	Synchron LXi Rubella IgM	1	1
bioMérieux	VIDAS Rub IgM	31	24
	VIDIA Rub IgM	8	7
DiaSorin	Liaison Rubella IgM	26	26
	ETI-RUBEK-M Reverse Plus	3	1
Roche	Niet gepreciseerd	1	1
Siemens	ADVIA Centaur Rubella IgM	15	15
	Immulate Rubella IgM	5	5
Niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd	1	1
Totaal		168	158

6.2.3 Resultaten

6.2.3.1 IgG

Voor staal S/7799 bekwamen 164 laboratoria een positief resultaat en 3 een borderline. Het laboratorium dat twee technieken gebruikte bekwam met beide een positief resultaat.

Alle laboratoria vonden de IgG positief op staal S/7824 (het laboratorium dat twee technieken gebruikte bekwam wederom met beide een positief resultaat).

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 6.2.3 en 6.2.4. Alle eenheden zijn uitgedrukt in IU/ml.

Tabel 6.2.3. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor IgG anti-Rubella antistoffen op staal S/7799 voor de meest gebruikte kits

Kit	Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
AxSYM Rubella IgG	53	32.0	20.8	45.9
Architect Rubella IgG	9	27.6	24.2	34.5
Access Rubella IgG	13	30.7	19.2	39.0
Unicel DxI Rubella IgG	11	30.4	23.3	40.7
VIDAS Rub IgG II	26	38.0	31.0	42.0
VIDIA Rub IgG	5	24.0	21.0	24.0
Liaison Rubella IgG	25	18.0	14.0	25.1
ADVIA Centaur Rubella IgG	15	46.9	43.0	67.0
Immulate Rubella IgG	6	19.2	17.9	21.3

Tabel 6.2.4. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor IgG anti-Rubella antistoffen op staal S/7824 voor de meest gebruikte kits

Kit	Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
AxSYM Rubella IgG	53	52.5	31.0	77.2
Architect Rubella IgG	9	38.0	35.9	48.3
Access Rubella IgG	13	45.3	29.9	64.4
Unicel DxI Rubella IgG	11	48.8	35.0	60.6
VIDAS Rub IgG II	26	62.0	53.0	77.0
VIDIA Rub IgG	5	38.0	28.0	40.0
Liaison Rubella IgG	25	30.0	23.5	42.5
ADVIA Centaur Rubella IgG	15	135.0	124.0	231.0
Immulite Rubella IgG	6	32.2	29.8	36.4

163 laboratoria hebben een interpretatie verstrekt voor de IgG: een overzicht hiervan vindt u terug in tabel 6.2.5.

Tabel 6.2.5. Overzicht van de interpretaties voor IgG anti-Rubella antistoffen voor enquête 2008/2

Interpretatie	Aantal labo's
Positieve IgG een maand na vaccinatie met significante stijging twee maand na vaccinatie.	105
Positieve IgG in beide stalen. Geen significante titerstijging.	50
Borderline positieve IgG een maand na vaccinatie met significante stijging twee maand na vaccinatie.	8
Totaal	163

Vijf van de laboratoria die "Borderline positieve IgG een maand na vaccinatie met significante stijging twee maand na vaccinatie" antwoorden, hebben de IgG van beide stalen als positief geïnterpreteerd.

Voor de beide andere interpretaties hebben we het verschil tussen de kwantitatieve resultaten voor stalen S/7799 en S/7824 berekend.

Voor "Positieve IgG een maand na vaccinatie met significante stijging twee maand na vaccinatie" hebben we aldus 106 "verschillen" berekend (resultaat van S/7824 groter dan resultaat voor S/7799) (nota: de 106 resultaten

(en niet 105) zijn te wijten aan het gegeven dat één laboratorium 2 technieken gebruikte; in deze berekening hebben we beide technieken apart bekeken): de mediaan hiervan bedraagt 22.3 (minimum: 6.3 en maximum 166.0). Voor "Positieve IgG in beide stalen. Geen significante titerstijging" hebben we aldus 48 "bruikbare" "verschillen" berekend (1 laboratorium drukte de resultaten niet uit in IU/ml maar in titers: 1/64 voor staal S/7799 en 1/128 voor staal S/7824; 1 laboratorium bekwam een hogere waarde voor staal S/7799 dan voor S/7824): de mediaan hiervan bedraagt 14.6 (minimum: 1.7 en maximum 33.0).

6.2.3.2 Cut-off voor immuniteit (IgG)

Volgende paragraaf toont per toestel een overzicht van de verschillende cut-off waarden voor immuniteit, die de laboratoria gebruiken. Sommige laboratoria hebben de cut-off voor immuniteit vermeld, andere de grijze zone.

Architect Rubella IgG

6 labo's: ≥ 10 UI/ml
1 labo: ≥ 10 UI/ml niet zwanger, ≥ 15 UI/ml zwanger
2 labo's: ≥ 15 UI/ml

AxSYM Rubella IgG

1 labo: grijze zone: 5-12 UI/ml; immuniteit: > 12 UI/ml
5 labo's: > 5 UI/ml
2 labo's: > 9.9 UI/ml
38 labo's: ≥ 10 UI/ml
1 labo: > 12 UI/ml
5 labo's: > 15 UI/ml

Access Rubella IgG

2 labo's: grijze zone: 10-15 UI/ml; immuniteit: > 15 UI/ml
1 labo: > 10 UI/ml
9 labo's: $\geq$ 15 UI/ml
1 labo: analytisch: > 14 IU/ml; klinische grens doorgemaakte Rubella WHO: 10 IU/ml

Synchron LXi Rubella IgG

1 labo: $\geq$ 15 UI/ml

Unicel DXi Rubella IgG

2 labo's: grijze zone: 10-15 UI/ml; immuniteit: > 15 UI/ml
1 labo: > 10 UI/ml
7 labo's: $\geq$ 15 UI/ml
1 labo: > 30 UI/ml

VIDAS Rub IgG II

2 labo's: grijze zone: 10-15 UI/ml; immuniteit: > 15 UI/ml
3 labo's: > 10 UI/ml
1 labo: > 14.9 UI/ml
20 labo's: $\geq$ 15 UI/ml

VIDIA Rub IgG

1 labo: > 9 UI/ml
1 labo: $\geq$ 10 UI/ml
3 labo's: $\geq$ 15 UI/ml

Rubella Hemagglutination Inhibition Test

1 labo: 1/16

ETI-RUBEK-G Plus

1 labo: grijze zone: 5-10 UI/ml; immuniteit: > 10 UI/ml

Liaison Rubella IgG

- 1 labo: grijze zone: 7-9 UI/ml; immuniteit: ≥ 10 UI/ml
- 1 labo: grijze zone: 10-15 UI/ml; immuniteit: > 15 UI/ml
- 10 labo's: > 10 UI/ml
- 7 labo's: ≥ 11 UI/ml
- 1 labo: > 12 UI/ml
- 3 labo's: > 15 UI/ml
- 1 labo: > 15 IU/ml of > 10 IU/ml op 2 verschillende afnames
- 1 labo: 11 IU/ml (technische cut-off); 20 IU/ml (klinische cut-off)

ADVIA Centaur Rubella IgG

- 1 labo: grijze zone: 5-9 UI/ml; immuniteit: 10 UI/ml
- 1 labo: grijze zone: 5-9.9 UI/ml; immuniteit: > 10 UI/ml
- 1 labo: grijze zone: 5-10 UI/ml; immuniteit: ≥ 10 UI/ml
- 1 labo: > 5 UI/ml
- 11 labo's: ≥ 10 UI/ml

Immulate Rubella IgG

- 1 labo: grijze zone: 10-15 UI/ml; immuniteit: > 15 UI/ml
- 1 labo: > 9.9 UI/ml
- 3 labo's: ≥ 10 UI/ml
- 1 labo: > 15 UI/ml

6.2.3.3 IgM

De resultaten van de IgM worden weergegeven in tabel 6.2.6

Tabel 6.2.6.: Resultaten van Rubella IgM voor enquête 2008/2

Resultaat	S/7799	S/7824
Positief	94	-
Positief/Borderline ¹	8	-
Positief/Negatief ¹	1	-
Borderline	45	7
Negatief	6	147
Totaal	154	154

¹ Een aantal laboratoria bekwamen verschillende resultaten met de verschillende technieken die ze gebruikten voor staal S/7799; naast deze 9 laboratoria met verschillende resultaten, waren er ook 4 die met beide technieken een positief resultaat bekwamen en 1 dat met beide technieken een borderline resultaat bekwam. Voor staal S/7824 bekwamen de 4 laboratoria die 2 technieken gebruikten met beide een negatief resultaat.

Voor staal S/7799, hebben we voor de kits met een voldoende aantal gebruikers 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 6.2.7.

Tabel 6.2.7. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor IgM anti-Rubella antistoffen op staal S/7799 voor de meest gebruikte kits.

Kit	Kwalitatief resultaat ¹	Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
AxSYM Rubella IgM (index) ²	4 - ; 36 bl ; 6 +	46	0.72	0.49	0.98
Architect Rubella IgM (index) ³	1 - ; 7 bl ; 1 +	9	1.19	0.77	1.40
Access Rubella IgM (AU/ml) ⁴	1 bl ; 11 +	11	27.0	12.6	29.9
Unicel DxI Rubella IgM (AU/ml)	10 +	10	25.8	21.3	29.5
VIDAS Rub IgM (index)	31 +	31	1.92	1.61	2.16
VIDIA Rub IgM (index)	8 +	8	1.55	1.45	2.02
Liaison Rubella IgM (AU/ml)	1 - ; 6 bl ; 19 +	26	28.9	20.0	45.9
ADVIA Centaur Rubella IgM (index)	15 +	15	1.58	1.32	1.83
Immulate Rubella IgM (index)	1 bl ; 4 +	5	1.21	1.03	1.50

¹ - = negatief; bl = borderline; + = positief

² Eén van de laboratoria die "negatief" antwoordde, bekwam een index van 0,721

- ³ Het laboratorium dat "positief" antwoordde bekam een index van 0.88; het laboratorium dat "negatief" antwoordde bekam een index van 1,18.
- ⁴ Eén laboratorium drukte zijn resultaat uit in ratio (2.18) en niet in AU/ml.

149 laboratoria hebben een interpretatie verstrekt voor de IgM: Een overzicht hiervan vindt u terug in tabel 6.2.8.

Tabel 6.2.8. Overzicht van de interpretaties voor IgM anti-Rubella antistoffen voor enquête 2008/2.

Interpretatie	Aantal labo's
Positieve IgM een maand na vaccinatie met negatieve IgM in de tweede afname ¹	107
Borderline IgM één maand na vaccinatie, negatieve IgM in de tweede afname	26
Positieve IgM in beide stalen maar met een significante daling in de tweede afname	3
Positieve IgM in beide stalen. Geen duidelijke stijging of daling ²	2
Positieve IgM één maand na vaccinatie en borderline IgM in de tweede afname	2
Negatieve IgM in beide stalen ³	7
Het borderline resultaat van staal S/7799 laat geen interpretatie toe	1
Andere, niet gepreciseerd	1
Totaal	149

¹ Twee van deze laboratoria gaven het antwoord "borderline" voor het tweede staal; het kwantitatieve resultaat lag in beide gevallen echter net boven de grenswaarde tussen negatief en borderline (respectievelijk 0.81 en 0.83 waar de grijze zone in beide gevallen 0.80-1.20 bedraagt).

² Wellicht betreft het voor beide laboratoria het aankruisen van een foutieve interpretatiecode: ze bekwamen immers alle 2 een positief resultaat voor het eerste staal en een negatief voor het tweede.

³ Eén van de laboratoria die deze interpretatie verstrekke, bepaalde de IgM op staal S/7799 met twee technieken en bekwam hierbij 2 verschillende resultaten (positief en negatief); voor staal S/7824 was het resultaat negatief

6.2.3.4 Cut-off voor positiviteit van de IgM

Volgende paragraaf toont per toestel een overzicht van de verschillende cut-off waarden voor positiviteit van de IgM, die de laboratoria gebruiken. Sommige laboratoria hebben de cut-off voor positiviteit vermeld, andere de grijze zone. Een aantal van de laboratoria die 2 technieken gebruikten, hebben slechts voor 1 van beide hun cut-off vermeld.

Architect Rubella IgM (index)

2 labo's: grijze zone: 0.75-0.99; positief: ≥ 1.0
1 labo: grijze zone: 1.2-1.6; positief: ≥ 1.6
1 labo: > 0.8
1 labo: > 1.0
4 labo's: ≥ 1.6

AxSYM Rubella IgM (index)

10 labo's: grijze zone: 0.6-0.799; positief: ≥ 0.8
1 labo: > 0.6
1 labo: > 0.799
31 labo's: ≥ 0.8
1 labo: > 1

Access Rubella IgM (UA/ml)

3 labo's: grijze zone: 10-15 AU/ml; positief: > 15 UA/ml
8 labo's: ≥ 15 UA/ml
1 labo: ratio: > 1.6

Synchron LXi Rubella IgM (UA/ml)

1 labo: ≥ 15 UA/ml

Unicel DXi Rubella IgM (UA/ml)

1 labo: grijze zone: 10-15 UA/ml; positief: > 15 UA/ml
1 labo: > 10 UA/ml
8 labo's: ≥ 15 UA/ml

VIDAS Rub IgM (index)

4 labo's: grijs zone: 0.8-1.2; positief: ≥ 1.2
1 labo: > 0.79
1 labo: > 0.80
21 labo's: ≥ 1.2
1 labo: ≥ 1.92

VIDIA Rub IgM (index)

1 labo: > 0.99
4 labo's: ≥ 1.0
1 labo: > 1.20

ETI-RUBEK-M Reverse Plus kit (index)

4 labo's: 0.407

Liaison Rubella IgM (UA/ml)

3 labo's: grijs zone: 20-25 UA/ml; positief: ≥ 25 UA/ml
6 labo's: > 20 UA/ml
14 labo's: ≥ 25 UA/ml
1 labo: > 30 UA/ml

ADVIA Centaur Rubella IgM (index)

3 labo's: grijs zone: 0.8-0.99; positief: ≥ 1.0
12 labo's: ≥ 1.0

Immulite Rubella IgM (index)

1 labo: > 0.9
3 labo's: ≥ 1.1

6.2.4 Bespreking kwaliteitskontrolle serologie: Rubella

Inleiding

Door een goede vaccinatie campagne in België zijn de meeste personen immuun voor rubella. Het gebeurt uiterst zelden dat we een primo-infectie in de zwangerschap diagnosticeren, en dit heeft tot gevolg dat we geen goed inzicht meer hebben in de serologische respons van primo-infecties bij Rubella.

De bedoeling van deze twee stalen was nagaan hoe de diverse kits, beschikbaar op de Belgische markt, reageren bij een vaccinatie. De gegevens die we hier bespreken betreffen de serologische respons na vaccinatie bij slechts één patiënte en die moeten dus met de nodige reserve worden geïnterpreteerd.

Bespreking rubella resultaten

IgG

De twee plasma stalen werden afgenomen respectievelijk 6 en 10 weken na vaccinatie. Het verwachte resultaat was dus een positieve IgG titer op het eerste staal (S/7799) met een stijging in het tweede staal (S/7824).

Bijna alle gebruikte kits konden IgG aantonen op het eerste staal. Drie labo's vonden een borderline resultaat.

De IgG titer op het tweede staal was positief bij alle deelnemers en 112 noteerden een "significante titerstijging".

Bij analyse van de titers die we bekomen bij de verschillende kits valt op dat er bij alle kits een hogere mediaan wordt gevonden bij het tweede serumstaal, maar de stijging van die mediaan is voor de meeste kits relatief beperkt. Het lijkt dat deze patiënte slechts langzaam antistoffen heeft opgebouwd.

Opvallend is dat de Cut-off voor immuniteit die de labo's hanteren binnen de gebruikers van dezelfde kits soms enorm verschillen: zo vinden we bvb. voor AxSYM verschillen van > 5 IU/ml naar >15 IU/ml; UniceL Dxi zelfs van > 10 tot >30 IU/ml. Eigenaardig is ook dat 1 labo andere waarden voor immuniteit hanteert voor zwangere en niet zwangere patiënten. Een meer uniforme Cut-off is zeker aangewezen!

IgM

Het verwachte resultaat was een positieve IgM op het eerste staal. Het tweede staal zou ons een idee kunnen geven over de duur van IgM positiviteit na vaccinatie, en dit in functie van de gebruikte kit. Hier ook met enige reserve gezien het om het serologisch profiel van één patiënte gaat.

De meeste labo's vonden een borderline tot positieve titer in IgM op het eerste staal. De gebruikers van AxSYM Architect vinden vaker een borderline resultaat op het eerste staal terwijl gebruikers van Access Unicel, VIDAS, VIDIA en ADVIA het eerste staal vaker positief vonden.

Het tweede staal werd meestal niet reactief gevonden op 7 borderline resultaten na die allen werden gevonden door gebruikers van de Vidas. Hier ook varieert de Cut-off van positiviteit voor IgM die de labo's hanteren binnen de gebruikers van dezelfde kits. De variaties van de Cut-off zijn meestal te wijten aan de grijze zone die soms wel en soms niet wordt beschouwd als positief.

Besluit

Deze 2 stalen tonen aan dat de beschikbare kits voor Rubella IgG bepalingen geen problemen opleveren (zie ook commentaar van een vorige kwaliteitscontrole). Bij deze patiënte was de toename in IgG eerder beperkt, maar werd waargenomen bij alle kits. De beperkte toename in IgG tussen de twee stalen illustreert dat het van groot belang is het verschil in IgG titer slechts te evalueren indien de twee serumstalen in dezelfde run kunnen worden getest.

De positiviteit voor IgM na vaccinatie was eerder laag en duurde niet lang: de meeste kits konden geen IgM meer detecteren 10 weken na vaccinatie.

De borderline positieve IgM resultaten die nog gevonden werden in het tweede serumstaal door de Vidas gebruikers (7 op 24 gebruikers) kunnen de indruk wekken dat de Vidas IgM misschien iets langer positief blijft dan de andere kits. Omgekeerd kunnen de borderline positieve IgM resultaten die gevonden werden met sommige kits op het eerste serumstaal de indruk wekken dat die iets minder gevoelig zijn. Deze conclusies zijn echter voorbarig, gezien we hier de immunitaire respons van één patiënte evalueren.

Het is noodzakelijk dat ieder labo nakijkt of de Cut-Off waarden voor positiviteit van IgG en IgM correct zijn (de correcte waarden zijn ofwel deze die de firma voorstelt, ofwel na evaluatie in het labo de "eigen gecorrigeerde waarden". Beide zijn correct, alleen moeten de eigen waarden gevalideerd zijn).

Wat is een significante titerstijging?

In de literatuur spreekt men van een significante titerstijging wanneer een 4-voudige titerstijging wordt gevonden en dit uitgevoerd op gepaarde stalen. Dit zijn richtlijnen betreffende titers gevonden met o.a. de hemagglutinatie inhibitie test, of met complement fixatie test. Voor resultaten die worden weergegeven in IE vinden we in de literatuur geen echte richtlijnen. Waarschijnlijk is dit te wijten aan de grote variatie in IE die gevonden worden met kits van verschillende leveranciers. Sommige kits vertonen een snelle stijging van de IE na een primaire infectie, andere vertonen een eerder vlakke curve. Een goede kennis van de kit die gebruikt wordt in het laboratorium is dus van groot belang om te kunnen inschatten of de stijging die gevonden wordt als significant kan beschouwd worden of niet.

Het is voorzichtig om enkel te spreken over significante titerstijgingen bij stalen waar de initiële IgG waarden niet al te hoog zijn: deze waarden liggen immers in het lineaire deel van de standaardcurve, en zijn dus minder onderhevig aan kleine variaties in OD die steeds gevonden worden bij een ELISA. Hogere IgG waarden worden afgelezen op het einde van de standaard curve en dit houdt in dat kleine variaties in OD een groot verschil in IgG resultaat kan geven.

Anne Naessens, UZ VUB, Brussel

6.3. HCV

6.3.1 De deelnemers

Op staal S/4665 hebben 175 laboratoria de totale antistoffen bepaald; op staal S/8604 deden 174 laboratoria dit.

Een aantal laboratoria voerden meer dan één test uit per staal voor de bepaling van de totale antistoffen. Enkele laboratoria voerden 2 maal de bepaling uit met hetzelfde reagens waarbij ze hetzelfde resultaat bekwamen voor beide bepalingen; deze laboratoria werden slechts 1 maal opgenomen in onderstaande verwerking.

Tabel 6.3.1. geeft het aantal uitgevoerde testen per staal weer.

Tabel 6.3.1. Aantal uitgevoerde bepalingen van totale anti-HCV antistoffen per staal

Staal	1 test	2 testen	Totaal
S/4665	171	4	175
S/8604	157	17	174

Er werden dus 179 testen uitgevoerd op staal S/4665 en 191 testen op staal S/8604.

De aard van de uitgevoerde testen wordt weergegeven in tabel 6.3.2.

Tabel 6.3.2. Aard van de uitgevoerde HCV testen per staal

Staal	1 test	2 testen			Totaal
	Elisa	Elisa + Elisa	Elisa + Blot	Elisa + LIA ¹	
S/4665	171	3	-	1	175
S/8604	157	6	5	6	174

¹ LIA = Line ImmunoAssay

Daarnaast was er 1 firmalaboratorium die op beide stalen enkel de blottesten uitvoerde met de recomblot HCV IgG 2.0 (met een negatief resultaat voor staal S/4665 en een positief voor staal S/8604).

We moeten ook vermelden dat 1 laboratorium voor staal S/8604 de IgM bepaalde met de Enzygnost anti-HCV IgM kit (resultaat positief). En 1 laboratorium voerde een PCR (voor opsporen van HCV-RNA) uit op hetzelfde staal met de Cobas Taqman HCV kit (resultaat positief).

6.3.2 Gebruikte reagentia

Tabel 6.3.3. geeft in aantal weer welke reagentia door de deelnemers gebruikt werden :

Tabel 6.3.3. Reagentia gebruikt voor de bepaling van totale anti-HCV antistoffen

Fabrikant	Reagens	S/4665	S/8604
Abbott	AxSYM HCV 3.0	58	60
	Architect HCV	33	33
	PRISM HCV	4	2
	IMx HCV 3.0	3	3
	HCV 3rd generation	3	3
BioRad	Access HCV Ab Plus op toestel	15	15
	Unicel Dxl 800 ¹		
	Access HCV Ab Plus op toestel	12	12
	Access ¹		
	Monolisa Anti-HCV Plus Version 2	2	2
	DeciScan HCV Plus	-	1
Diapro	HCV Ab	1	1
Innogenetics	Innotest HCV Ab IV	5	5
	Innolia HCV score	1	6
Mikrogen (verdelers Euribel)	recomBlot HCV IgG	-	2
Ortho Diagnostics	HCV version 3.0 Elisa	11	12
	Vitros ECI anti-HCV	7	8
	Chiron RIBA HCV 3.0 SIA	-	2
Roche	Cobas e anti-HCV	2	2
	Elecsys anti-HCV	1	1
Siemens	ADVIA Centaur HCV	21	21
Totaal		179	191

¹ Deze beide toestellen worden door de firma Analis Beckman gecommmercialiseerd

6.3.3 Resultaten

6.3.3.1 Staal S/4665

174 laboratoria bekwamen een negatief resultaat (laboratoria die 2 methoden gebruikten, bekwamen met beide een negatief resultaat). Eén laboratorium bekwam een borderline resultaat.

Dit laatste laboratorium is het enige dat het staal in routine naar een referentiecentrum zou doorsturen voor confirmatie. Alle andere zouden dit niet doen.

6.3.3.2 Staal S/8604

Een overzicht van de kwalitatieve interpretatie van de resultaten van staal S/8604 wordt weergegeven in tabel 6.3.4.

Tabel 6.3.4. Kwalitatieve resultaten voor HCV voor staal S/8604

Resultaat	Aantal labo's
Positief	171
Positief/ Borderline ¹	2
Geen kwalitatieve interpretatie ²	1
Totaal	174

¹ Twee laboratoria bekwamen een verschillend resultaat met de 2 technieken die ze gebruikten. Alle overige laboratoria die 2 methoden gebruikten, bekwamen voor beide hetzelfde (positieve) resultaat.

² Eén laboratorium gaf wel het kwantitatieve resultaat weer doch niet de kwalitatieve interpretatie ervan (mogelijk betreft het een vergetelheid bij het invullen van het antwoordformulier).

Het valt op te merken dat de beide borderline resultaten met een blottechniek bekomen werden.

Voor de meest gebruikte methoden waarbij het kwantitatieve resultaat geantwoord werd, hebben we minimum, maximum en mediaan bepaald. Deze gegevens worden weergegeven in tabel 6.3.5. Voor de kit ADVIA Centaur HCV (Siemens) hebben 20 laboratoria het resultaat > 11.0 geantwoord.

Tabel 6.3.5. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor HCV-antistoffen voor S/8604 voor de meest gebruikte kits (de resultaten worden telkens uitgedrukt in index (sample/cut-off)).

Fabrikant	Reagens	Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
Abbott	Architect HCV	32	13.49	10.67	15.78
	AxSYM HCV 3.0	60	66.68	40.68	99.45
BioRad	Access HCV Ab Plus op toestel Access	12	7.14	6.63	8.40
	Access HCV Ab Plus op toestel Unicel	15	7.42	5.68	8.40
Ortho Diagnostics	HCV Version 3.0	11	4.35	1.93	7.62
	Elisa				
	Vitros Eci anti-HCV	8	12.55	11.20	13.80

Op de vraag of ze dit staal in routine naar een referentiecentrum zouden doorsturen antwoordden 93 laboratoria "ja" en 81 "neen".

Onder de laboratoria die "neen" antwoordden, bevinden zich 4 laboratoria die het resultaat van een blottest geantwoord hebben (1 hiervan heeft tevens het resultaat van een PCR geantwoord) en 4 die het resultaat van de LIA geantwoord hebben. Tevens vermeldden 4 van de laboratoria die "neen" antwoordden dat zij zelf een confirmatie uitvoeren en 2 andere dat zij zelf een PCR uitvoeren. Drie laboratoria vermeldden dat confirmatie van de serologie niet noodzakelijk is, maar dat bepaling van de virale lading nuttig zou zijn (al dan niet op een nieuw staal). Eén laboratorium zou een 2e staal vragen voor controle van de serologie en bepaling van de virale lading.

Twee laboratoria die een LIA uitvoerden en 1 dat een blotbepaling uitvoerde, gaven het antwoord "ja" op deze vraag. Van de overige laboratoria die "ja" geantwoord hebben, zijn er vijf die vermelden dat ze het zouden doorsturen voor PCR of genotypering (1 labo zou daarvoor een 2^e staal vragen); één laboratorium vermeldde dergelijke stalen enkel door te sturen bij een nog niet gekende patiënt of in geval van follow-up van therapie. Eén laboratorium vermeldde dat een nieuw staal gevraagd zou worden om hierop de serologie te controleren met een tweede techniek.

6.3.3 Commentaar HCV

Het verwachte resultaat van staal S/4665 was negatief en van staal S/8604 positief.

Op één laboratorium na bekwamen alle 175 laboratoria een negatief resultaat voor staal S/4665. Vermits het laboratorium dat een borderline resultaat bekwam, het staal in routine naar een referentiecentrum zou doorsturen voor confirmatie, zou ook hier het uiteindelijk resultaat negatief zijn. Dit staal leverde dus geen problemen op.

Ook staal S/8604 werd door alle laboratoria correct beantwoord. Opvallend is dat slechts 107 van de 174 laboratoria (61,5%) die zelf geen confirmatietest uitvoeren of het staal met PCR zouden onderzoeken, dit staal in routine naar een referentiecentrum zouden doorsturen. Of deze werkwijze bepaald is door de sterkte van het positief resultaat of de klinische context van geelzucht kan uit de antwoorden niet opgemaakt worden.

Hoewel de huidige testen behoorlijk specifiek zijn, kan de lage positieve voorspellende waarde van de test in een populatie met een lage prevalentie bij gebruik van één enkele screeningstest aanleiding geven tot vals-positieve resultaten. Controle van het resultaat is in dergelijke situaties absoluut aangewezen. De positieve voorspellende waarde van de test is wel aanvaardbaar in de klinische context van geelzucht. En zoals een laboratorium vermeldde, is het niet nodig een positief staal te laten confirmeren als het om een gekende patiënt gaat.

Blotbepaling of LIA zijn niet de enige mogelijke manieren om een serologisch resultaat te confirmeren. Indien men een positief resultaat bekomt met twee testen die een verschillend antigen opsporen, kan men overgaan tot het aanvragen van de virale lading.

De manier van werken van een labo kan mede bepaald worden door de beschikbaarheid van bepaalde testen in het labo. Door bij een positief screeningsresultaat onmiddellijk over te gaan tot een kwalitatieve PCR of een bepaling van de virale lading kan een positief resultaat van de moleculaire test beschouwd worden als een confirmatie van de

serologie. Bij een negatief resultaat blijft men in het ongewisse over de serostatus van de patiënt. Immers, de patiënt kan HCV-antilichamen hebben van een oude infectie terwijl het HCV-RNA onder detectiegrens ligt. In dat geval is het aangewezen de serostatus van de patiënt te verifiëren met een blotbepaling of met LIA. Hoewel de aanwezigheid van HCV antistoffen geen onderscheid maakt tussen recente en oude infecties moet een geconfirmeerd positief resultaat aanleiding geven tot een verdere medische evaluatie van de HCV infectie en voorlichting van de patiënt.

Een manier om het aantal (dure) serologische confirmatietesten te beperken is gebruikmaken van de sterkte van het positief resultaat (signal to cut-off ratio) en enkel die stalen laten confirmeren die onder een bepaalde signal to cut-off ratio liggen¹.

Het moet worden opgemerkt dat de terugbetaling van de moleculaire testen voor HCV en dus het aanvragen ervan gebonden is aan bepaalde voorwaarden. Voor deze voorwaarden wordt verwezen naar het KB van 19 maart 2008 (verschenen in het Belgisch Staatsblad van 18 april 2008).

Zoals door enkele laboratoria terecht opgemerkt is het aangewezen een apart afgenomen staal te versturen voor de uitvoering van moleculaire testen.

Marjan Van Esbroeck, ITG, Antwerpen

REFERENTIES

1. Guidelines for Laboratory Testing and Result Reporting of Antibody to Hepatitis C Virus. MMWR Recommendations and Reports. 2003;52(RR-3): 1-13.