

**FEDERALE OVERHEIDSDIENST, VOLKSGEZONDHEID, VEILIGHEID
VAN DE VOEDSELKETEN EN LEEFMILIEU**

COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE

**DIENST VOOR LABORATORIA VAN KLINISCHE BIOLOGIE
COMITE VAN DESKUNDIGEN**

Globaal Rapport

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE VOOR
ANALYSEN KLINISCHE BIOLOGIE**

MICRO/SERO/PARA

ENQUETE 2011/01

DIT RAPPORT WORDT NIET MEER VERSTUURD MET DE POST

Microbiologie

Capnocytophaga sputigena
Staphylococcus lugdunensis
Acinetobacter baumannii
Afwezigheid van pathogenen
Aanvulling bij *S. gallolyticus* EKE 2010/3

Parasitologie

Plasmodium falciparum
Loa loa
Mansonella perstans

Serologie

CMV
Borrelia

WIV-11/01/Micro/Sero/Para/83

COMITE VAN EXPERTEN VOOR MICRO/SERO/PARA

WIV (secretariaat)	:	02/642.55.22 – FAX : 02/642.56.45
(Dr. VERNELEN K.)	:	02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45
(Coördinator)	:	e-mail : kris.vernelen@wiv-isp.be
Apr. BOEL An	:	053/72.47.85 - FAX : 053/72.45.88
	:	e-mail : an.boel@olvz-aalst.be
Dr. CLAEYS Geert	:	09/332.36.45 – FAX : 09/332.49.85
	:	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. MAGERMAN Koen	:	011/30.97.40 – FAX : 011/30.97.50
	:	e-mail : koen.magerman@jessazh.be
Dr. NAESSENS Anne	:	02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15
	:	e-mail : anne.naessens@uzbrussel.be
Dr. PADALKO Elizaveta	:	09/332.21.08 – FAX : 09/332.49.85
	:	e-mail : elizaveta.padalko@uzgent.be
Dr. REYNDERS Marijke	:	050/45.39.27 – FAX : 050/45.26.19
	:	e-mail : marijke.reynders@azsintjan.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

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_nl/rapports_annee.htm

I. Algemene bemerkingen

Voor de 1^e evaluatie van het jaar 2011 (enquête 2011/1) werd volgend materiaal verzonden op 17 januari 2011.

1.1 Drie gelyofiliseerde monsters en 1 klinisch monster voor identificatie.

Voor 2 monsters werden de resultaten van de gevoeligheidstesten gevraagd.

1.2 Eén bloeditstrijkje en één “foto-case” voor parasitologisch onderzoek.

1.3 Vier plasmamonsters voor de serologie van Borrelia en CMV.

AANTAL LABORATORIA DEELNEMERS

Het Aantal laboratoria evalueerbare antwoordbulletins bedroeg:

1. Voor identificatie en antibiogram:	171
2. Voor parasitologie:	172
3. Voor de sérologie	
Borrelia:	138
CMV:	168

Alle stalen gebruikt in de EKE zijn voorafgaandelijk goedgekeurd op bruikbaarheid door de leden van de onderscheiden expertencomités.

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

U kan de overzichten van alle stalen die in de verschillende enquêtes verzonden werden terugvinden op onze website op volgende pagina's:

Bacteriologie:

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/nl/microbiologie.htm
en vervolgens klikt u onder “Codes” op “Overzicht verstuurde kiemen”

Parasitologie:

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/nl/parasitologie.htm
en vervolgens klikt u onder “Codes” op “Overzicht verstuurde parasieten”

Infectieuze serologie:

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/nl/inf_serologie.htm
en vervolgens klikt u op “Lijst van de geëvalueerde parameters”

II. Identificaties

2.1 Cultuur M/7251 *Capnocytophaga sputigena*

Het genus *Capnocytophaga* behoort tot de familie van de Flavobacteriaceae en bestaat uit 7 species: *C. ochracea*, *C. sputigena* en *C. gingivalis* (vroeger behorend tot CDC group Dysgonic Fermenter 1), *C. granulosa*, *C. haemolytica*, *C. canimorsus* en *C. cynodegmi* (respectievelijk overeenkomend met de groepen CDC DF-2 en DF-2 like). Dit genus vertoont een grote fenotypische en genotypische heterogeniteit zelfs als de species verwant zijn door enkele gemeenschappelijke kenmerken zoals de morfologie, de glijdende beweeglijkheid, de capnofilie, de producten na vergisting via gaschromatografie, de samenstelling van de cellulaire vetzuren en de aanwezigheid van guanine en cytosine

De bacillen zijn Gram negatief, fusiform of gefilamenteerd, capnofiel, facultatieve anaëroben, met een fermentatief metabolisme, die een glijdende beweeglijkheid vertonen. De groei is traag en vereist aangerijkte media (Columbia-agar aangerijkt met schapenbloed, chocolade-agar aangerijkt met PolyVitex, Schaedler-agar aangerijkt met vitamine K) onder CO₂ (5 à 10%). De kolonies zijn zeer klein na 24 h en kunnen een diameter van 2 à 4 mm bereiken na 2 tot 4 dagen incubatie. Er kunnen verschillende kolonietypes aangetroffen worden: convex of vlak, met onregelmatige of gerafelde randen, die zich verspreiden over de bodem en er soms aan vast kleven. Ze vertonen meestal een gele tot oranjegele kleur die zichtbaar is wanneer de kolonies met een entnaald van de bodem verwijderd worden. De belangrijkste producten na vergisting van glucose zijn azijnzuur en succinylzuur. Afdoende identificatie tot op speciesniveau met biochemische testen is niet altijd mogelijk. Definitieve identificatie kan gebeuren door sequencing van het gen dat codeert voor het 16S RNA. De species van dierlijke oorsprong, *C. canimorsus* en *C. cynodegmi*, onderscheiden zich van andere *Capnocytophaga* species door aanwezigheid van een oxydase en een katalase (zie tabel).

C. ochracea, *C. sputigena*, *C. gingivalis*, *C. granulosa* en *C. haemolytica* zijn commensalen van de orofaryngeale flora van de mens (ze worden met name aangetroffen op de tandplaque en op de tandvlees gleuf) en ze veroorzaken parodontale infecties zoals parodontitis en gingivitis. Ze zijn ook verantwoordelijk voor andere infecties zowel bij immuungedeprimeerde als bij immunocompetente patiënten: bacteriëmie, endocarditis, mediastinale abcessen, septische artritis, peritonitis, pyelonefritis, inguinale lymfadenopathie, necroserende keratitis, enz. Systemische infecties bij immuundeficiënte patiënten zijn vaak geassocieerd met ulceraties van het mondslijmvlies, veroorzaakt door de chemotherapie.

C. canimorsus en *C. cynodegmi* worden aangetroffen in de orofaryngeale flora van voornamelijk honden en in mindere mate katten. Infecties veroorzaakt door deze species zijn meestal het gevolg van honden- of kattenbeten of krabletsels of na contact met deze dieren. De infecties veroorzaakt door *C. canimorsus* zijn vaak zeer ernstig tot fataal voornamelijk bij patiënten zonder milt of alcoholici, en omvatten meningitis, fulminante sepsis, cellulitis en endocarditis. *C. cynodegmi* lijkt minder virulent en is verantwoordelijk voor meer lokale infecties.

Capnocytophaga is meestal gevoelig voor penicillines, cefalosporines (behalve de 1^e generatie cefalosporines voor de stammen van de groep DF-1 en aztreonam voor de stammen van de 2 groepen), macroliden-lincosamiden, tetracyclines, fluoroquinolones en chloramfenicol. De kiem is daarentegen resistent tegen colistine, trimethoprim, metronidazole en aminoglycosiden. Er werden stammen beschreven van *Capnocytophaga* DF-1 die beta-lactamasen produceren, die gemakkelijk gedetecteerd worden door de nitrocefine-test, evenals stammen die ESBL produceren (TEM-17, CfxA2, CfxA3). Deze stammen zijn hoog resistent tegen 3^e generatie cefalosporines maar blijven gevoelig voor cefoxitine, carbapenems en amoxicilline-clavulaanzuur.

Ongeveer 85% van de laboratoria hebben de stam correct geïdentificeerd tot op genusniveau. 7.6% hiervan hebben een identificatie tot op speciesniveau uitgevoerd. De vastgestelde biochemische eigenschappen pleiten inderdaad voor *C. sputigena*. De identificatie werd bevestigd met sequencing van het gen dat codeert voor het 16S RNA. Hoewel de species *Sphingomonas*, *Elizabethkingia* en *Chryseobacterium* een geel tot oranjegeel pigment produceren, net zoals *Capnocytophaga*, kan men ze gemakkelijk differentiëren van de humane species op basis van oxydase, katalase en de aërobe groei.

De fusiforme morfologie, de trage en capnofiele/anaërobe groei en het gele pigment zijn eigenschappen die moeten doen denken aan het genus *Capnocytophaga*, meerbepaald in de klinische context die beschreven werd voor de stam uit de kwaliteitscontrole maar eveneens in geval van dierenbeten of krabletsels door dieren.

Tabel : Biochemische kenmerken van *Capnocytophaga*

Biochemische Kenmerken	<i>C. gingivalis</i>	<i>C. ochracea</i>	<i>C. sputigena</i>	<i>C. haemolytica</i>	<i>C. granulosa</i>	<i>C. canimorsus.</i>	<i>C. cynodegmi</i>
Oxydase	-	-	-	-	-	+	+
Katalase	-	-	-	-	-	+	+
Mac Conkey	-	-	-	-	-	-	-
β-hemolyse	-	-	-	+	-	-	+
ADH	-	-	-	NT	NT	+	+
Glucose	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	+	v	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+	+	-	+
Urease productie	-	-	-	-	-	-	-
Indol	-	-	-	-	-	-	-
Gelatinase	-	-	v	NT	NT	-	-
Esculine hydrolyse	+	+	+	+	-	v	+
Zetmeel hydrolyse	-	+	-	NT	NT	NT	NT
ONPG	-	+	+	+	+	+	+
Nitraatreductie	-	-	v	+	-	-	v

NT = niet getest, v = variabel

Kenmerken die voor stam M/7251 vastgesteld werden:

Afwezigheid van groei op Mac Conkey, betere groei op chocolade-agar + PolyVitex onder CO₂ en op Schaedler-agar onder anaërobe omstandigheden dan op Columbia in aërobe omstandigheden.

Negatieve reacties voor oxydase, katalase, indol, urease productie, nitraatreductie, ADH, zetmeel hydrolyse, vergisting van lactose en xylose.

Positieve reacties voor beweeglijkheid, esculine hydrolyse, ONPG, vergisting van glucose en sucrose.

C. Nonhoff, hôpital Erasme, C.U.B., Brussel

Referenties

1. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. 2007. Manual of Clinical Microbiology. 9th Edition. ASM Press.
2. Freney J, Renaud F, Leclercq R, Riegel P. 2007. Précis de Bactériologie. 2^e Edition. Editions ESKA.
3. Handal T, Giraud-Morin C, Caugant DA, et al. 2005. Chromosome- and plasmid-encoded β -lactamases in *Capnocytophaga* spp. Antimicrob Agents Chemother 49: 3940-43.
4. Jolivet-Gougeon A, Buffet A, Dupuy C, et al. 2000. In vitro susceptibilities of *Capnocytophaga* isolates to β -lactam antibiotics and β -lactamase inhibitors. Antimicrob Agents Chemother 44: 3186-88
5. Rosenau A, Cattier B, Gousset N, et al. 2000. *Capnocytophaga ochracea* : characterization of a plasmid-encoded extended-spectrum TEM-17 β -lactamase in the phylum *Flavobacter-Bacteroides*. Antimicrob Agents Chemother 44: 760-62.
6. Bonatti H, Rossboth DW, Nachbaur D, et al. 2003. A series of infections due to *Capnocytophaga* spp. In immunosuppressed and immunocompetent patients. Clin Microbiol Infect 9: 380-7.
7. Lion C, Escande F, Burdin JC. 1996. *Capnocytophaga canimorsus* infections in human : review of the literature and cases report. Eur J Epidemiol 12: 521-33

2.2. Stam M/10426 van enquête 2011/1 was een *Staphylococcus lugdunensis* .

Staphylococcus lugdunensis is een coagulase negatieve stafylokok (CNS) die voor het eerst beschreven werd in 1988 door J. Freney, een microbioloog uit Lyon.

In een overzicht van 494 klinische isolaten, identificeerde hij deze kiem in 3% van de gevallen [1]. Kenmerkend voor *S. lugdunensis*, in tegenstelling tot de meeste CNS, is zijn pathogeen vermogen en zijn gevoeligheid aan β -lactams [2].

Hoewel hij vooral gekend is als huidcontaminant, kan hij ook ernstige community-acquired infecties veroorzaken. De meest beschreven pathologieën zijn, in ongeveer $\frac{3}{4}$ van de gevallen, infecties van de huid en weke weefsels, maar ook septicemieën, endocarditiden bij native kleppen en infecties van prothetisch materiaal. Een studie uit 1991 toonde aan dat van de 229 klinische isolaten van *S. lugdunensis*, slechts 15% contaminanten waren [3,4,5].

Identificatie:

S. lugdunensis is beta-hemolytisch. Net zoals de andere CNS bezit hij, per definitie, geen coagulase exoenzyme of "vrij coagulase" en de coagulasetest in tube blijft dus negatief; hij bezit daarentegen wel de gebonden vorm van het enzyme, ook "clumping factor" genoemd, wat kan leiden tot vals positieve agglutinatietesten met latexpartikels.

De commerciële galerijen en automaten geven een betrouwbare identificatie. Trouwens 95.3% (163/171) van de deelnemers hebben de kiem correct geïdentificeerd.

Gevoeligheid voor antibiotica:

S. lugdunensis is gevoelig voor de meest antibiotica, zonder onderscheid tussen de verschillende klassen. Nochtans, waar in 1990 minder dan 4% van de isolaten resistent waren tegen penicilline G, zijn in de loop van de laatste tien jaar resistenties van 12 tot 27% beschreven. Resistentie tegen methicilline is zelden beschreven, wat ertoe geleid heeft dat de CLSI de breakpoints van de diskdiffusietest voor oxacilline in 2005 gewijzigd heeft om ze gelijk te stellen met deze van *S. aureus*, en in 2006 om het testen van oxacilline te vervangen door cefoxitine.

Voor *S. lugdunensis* is een MIC-waarde voor oxacilline ≥ 4 $\mu\text{g/mL}$ goed gecorreleerd met de aanwezigheid van het *mecA* gen en het *pbp2a*. Zie tabel 1 voor de huidige interpretatiecriteria.

Een studie uit 2008 op 106 klinische isolaten toonde aan dat 95,3% ervan gevoelig waren voor cefoxitine [6].

Het voornaamste doel van de verzending van deze stam was om te regels voor aflezen en interpreteren van het antibiogram te herhalen

De verstuurde stam was multigevoelig, met in begrip van penicilline G.

Wij stelden in deze enquête multipelen problemen vast bij de interpretatie van het antibiogram van de β -lactams. De vele commentaren en soms meerdere uitgevoerde testen zijn hier getuige van:

☞ Penicilline: problemen zowel voor de screeningstest voor β -lactams (cefinase) als voor het aflezen van de gevoeligheid

87/155 deelnemers (56.1%) antwoordden "gevoelig" en 66/155 (42.3%) "resistent". Twee deelnemers gaven geen antwoord aangezien ze uiteenlopende resultaten bekwamen met de verschillende gebruikte methoden.

☞ Oxacilline/ Methicilline: 131/158 deelnemers (82.9%) antwoordden "gevoelig" en 27/158 (17.1%), "resistent".

☞ Cefoxitinetest: 111/128 (86.7%) antwoordden "gevoelig" en 17/128 (13.3%), "resistent".

We merken op dat de gebruikers van de schijfjes (papier of Rosco) en van de Phoenix slechts weinig problemen ondervonden bij de interpretatie van de resultaten maar dat de gebruikers van Vitek2 en Vitek2 compact daarentegen frequenter een foutief antwoord

gaven. Voor MIC-waarden ≤ 0.12 mg/mL of inhibitiediameters ≥ 29 mm is het aangeraden om de productie van een β -lactamase op te sporen [8].

Voor de andere antibioticaklassen kwamen de antwoorden in het algemeen overeen met de verwachte antwoorden.

Tabel 1 [7,8]

		EUCAST[6]				CLSI [7]			
		MIC (mg/L)		Diameter (mm)		MIC (mg/L)		Diameter (mm)	
		S	R	S	R	S	R	S	R
Oxacilline 1 μ g	<i>S.lugd.</i>	-	>2	-	-	≤ 2	≥ 4	-	-
	CNS	-	>0.25	-	-	≤ 0.25	≥ 0.5	-	-
Cefoxitine screen	<i>S.lugd.</i>	-	>4	≥ 22	<22	≤ 4	≥ 8	≥ 22	≤ 21
	CNS	-	>0.25*	$\geq 25^*$	<25*	-	-	≥ 25	≤ 24

*Voor andere CNS dan *S. lugdunensis* geeft de MIC-waarde van cefoxitine een minder goede voorspelling van de aanwezigheid van het *mecA* gen.

Anne Dediste, Laboratoire de la Porte de Hal
CHU St-Pierre et Institut Jules Bordet

Referenties

1. Gatermann SG. Et al. CMI. 2007;13:777.
2. Kleiner E. et al. CID. 2010;51:80
3. Herchline T. et al. JCM.1991;29:419
4. CMR.2008;21(1):111
5. Herchline T. et al. AAC. 1990;34(12):2434.
6. Thean Yen Tan et al. JCM. 2008;46:2393.
7. EUCAST. V1.3. 2011-01-05
8. CLSI 2011. Supplément M100-21

2.3 Cultuur M/10639 *Acinetobacter baumannii*

Staal **M/10639** was een *Acinetobacter baumannii* die resistent was tegen alle antibiotica, met inbegrip van de carbapenems en met uitzondering van colistine. Deze stam produceerde een verworven oxacillinase (β -lactamase van klasse D van Ambler) met de eigenschappen van een carbapenemase (OXA-23) dat bijna uitsluitend teruggevonden wordt bij *A. baumannii*. De stam bevatte daarenboven eveneens een resistentiegen *bla*_{PER-1} dat codeert voor een ESBL van het type PER-1 (klasse A van Ambler) dat eveneens soms teruggevonden wordt bij *A. baumannii* en bij *Pseudomonas aeruginosa*.

A. baumannii is een bijna exclusieve ziekenhuispathogeen. Hij is met name oorzaak van pneumonieën, katheterinfecties en septicemieën bij patiënten die op intensieve zorgen gehospitaliseerd zijn en bij immuungedepimeerde patiënten. De multiresistentie van deze kiem is niet steeds dezelfde. Meestal omvat zij resistentie tegen imipenem (of meropenem). *A. baumannii* heeft een natuurlijke resistentie tegen ertapenem.

De carbapenemasen bij *A. baumannii* zijn momenteel zeer goed beschreven. Het betreft zelden β -lactamasen die geïnhibeerd worden door clavulaanzuur, zoals de KPC of sommige GES (GES-14) die behoren tot de klasse A van Ambler of metallo- β -lactamasen (VIM, IMP, SIM, GIM, NDM; klasse B van Ambler) maar meestal oxacillinasen (voornamelijk OXA-23, 40 en 58) voorzien van de eigenschappen van carbapenemasen. Recentelijk werd een KPC-2 (een carbapenemase die meestal voorkomt bij *K. pneumoniae* en andere enterobacteriaceae) geïdentificeerd bij *A. baumannii* in Puerto Rico, en NDM-1 werd teruggevonden bij *A. baumannii* bij patiënten die in India of Pakistan verbleven. De detectie van deze 2 laatste enzymen bij *A. baumannii* onderlijnt het vermogen en de neiging van sommige genen die voor carbapenemasen coderen om zich uitgebreid te verspreiden over verschillende species van Gram negatieve bacillen, waaronder *Acinetobacter*.

De hydrolytische activiteit van carbapenems uitgevoerd door oxacillinasen is zwak (gemiddeld 1000 maal zwakker dan deze van de metallo- β -lactamasen) en de tot uitdrukking gebrachte resistentie-levels zijn variabel (MIC voor meropenem van 4->256 mg/L). Bovendien hydrolyseren deze oxacillinasen geen 3^e generatie cefalosporines en de resistentie tegen ceftazidime van *A. baumannii* berust meestal op de associatie met een chromosomaal cefalosporinase van het type ADC (induceerbare AmpC-like van de Enterobacteriaceae). De overexpressie van het chromosomaal cefalosporinase bij *A. baumannii* is te wijten aan de aanwezigheid van een specifieke insertiesequentie (ISAba1) vóór het *bla*_{ADC} gen, die leidt tot promotorsequenties en op deze wijze de transcriptie hiervan versterkt. Bovendien kan de aanwezigheid van andere types van β -lactamasen (zoals een BLSE van het type PER-1 bij stam M/10639) eveneens de co-resistentie tegen cefalosporines verklaren. De stammen die oxa-carbapenemasen produceren zijn vaak resistent tegen andere antibioticaklassen (meer bepaald aminoglycosiden, cotrimoxazole, tetracyclinen,...) want zij bevatten eveneens andere resistentiegenen die aanwezig zijn op identieke of andere genetische dragers.

De oxacillinasen met carbapenemase-eigenschappen worden specifiek teruggevonden bij *A. baumannii* en slechts zeer zelden bij andere *Acinetobacter* spp. die in de kliniek voorkomen. Zij behoren tot 4 fylogenetisch onderscheiden types: OXA-23, OXA-40, OXA-58 en OXA-143. Zeldzamer kan de overexpressie van natuurlijke oxacillinasen van *A. baumannii* (van type OXA-51) ook bijdragen tot de resistentie tegen carbapenems.

De fenotypische detectie van oxa-carbapenemasen bij *A. baumannii* kan onmogelijk uitgevoerd worden met routinetechnieken want hun activiteit wordt noch door clavulaanzuur, noch door EDTA, boorzuur of cloxacilline geïnhibeerd. Een zwakke synergie wordt soms vastgesteld tussen imipenem en EDTA (soms ook met dipicolinezuur). Dit is waarschijnlijk eerder een weerspiegeling van het destabiliserend effect van EDTA op de lipopolysacchariden van de bacteriewand en de wijziging van de permeabiliteit die daar het gevolg van is en niet van het direct inhiberende effect van EDTA op de oxa- β -lactamasen. De genen die coderen voor de oxacillinasen van *A. baumannii* (meer bepaald OXA-23 en

OXA-58) zijn vaak plasmidair en gelokaliseerd op de transposons van diverse genetische structuren en liggen aan de basis van hun mobiliteit en hun uitgebreide verspreiding binnen het species *A. baumannii*. De rol van het porine CarO en van een ander 43kDa proteïne (OprD-like) in de resistentie tegen imipenem werd aangetoond. Het belang van de wijziging van deze porines in de fenotypische resistentie tegen carbapenems (en meer bepaald tegen meropenem) dient daarentegen nog gepreciseerd te worden. Hetzelfde geldt voor de bijkomende rol van één van de natuurlijk aanwezige effluxsystemen van *A. baumannii*, het systeem AdeABC, waarvan de overexpressie, geassocieerd aan de aanwezigheid van bepaalde oxacillinasen, een bron zou kunnen zijn van resistentie tegen carbapenems.

Vele studies gewagen van de toenemende resistentie van dit species tegen carbapenems en dit op alle continenten.

De aanwezigheid van MBL carbapenemasen bij *A. baumannii* werd vooral gerapporteerd in Japan, Korea, China, Brazilië en veel minder in Europa (Italië, Griekenland). Recentelijk werden enkele *A. baumannii* stammen die carbapenemasen van het type NDM-1 produceren geïsoleerd in Duitsland en het Verenigd Koninkrijk bij patiënten die naar India of Pakistan gereisd hadden. Bij ons weten is er geen enkel isolaat van *Acinetobacter* spp. dat MBL produceert gerapporteerd in België, en de hier onderzochte stam, hoewel zij verdacht was want geïsoleerd bij een patiënt die in Pakistan gehospitaliseerd was, was negatief voor NDM-1.

De prevalentie van oxa-carbapenemasen in België is slecht gekend maar ze blijft waarschijnlijk laag (afwezigheid van systematische surveillance). Verschillende sporadische gevallen of hospitaalepidemies variërend in belangrijkheid (enkele patiënten tot meerdere tientallen) werden gerapporteerd in verschillende ziekenhuizen sinds 2005, meestal bij patiënten opgenomen op Intensieve Zorgen, inwendige geneeskunde of brandwondencentra. Zeer vaak waren de indexgevallen patiënten die een verblijf in het buitenland doorbrachten (Noord-Afrika, landen uit Zuid-Europa, Griekenland, Turkije, Midden-Oosten, Zuid-Oost-Azië,...) en die in deze landen gehospitaliseerd waren. Rekening houdend met het hoog epidemiologisch potentieel van deze stammen, de moeilijkheid om hun transmissie in te perken en om epidemies te beheersen (soms langdurige persistentie van deze stammen in een hospitaalomgeving gedurende meerdere maanden) en de beperkte therapeutische mogelijkheden (enkel colistine, tigecycline (het meest frequent) en soms rifampicine blijven nog actief tegen deze stammen), is het van primordiaal belang ze snel te herkennen en alle noodzakelijke hygiënische maatregelen te treffen om efficiënt hun verspreiding te beheersen.

Isolaat **M/10639** vertoonde een multiresistent profiel dat het geheel der β -lactams en de aminoglycosiden (intermediaire resistentie tegen amikacine en gentamicine), de fluorochinolones, cotrimoxazole en rifampicine (deze 2 laatsten werden niet getest in de EKE) omvatte op een karakteristieke maar niet specifieke wijze met een mechanisme van verworven resistentie van het type oxacillinase/carbapenemase. De interpretatie van de resultaten voor meropenem en de andere geteste antibiotica (met uitzondering van amikacine) stelde geen problemen. Voor de aminoglycosiden was het resistentiemechanisme van een beperkt niveau (waarschijnlijk overexpressie via efflux) met een MIC van 32 mg/L voor amikacine via microdilutie (ofwel I volgens de aanbevelingen van de CLSI (M100-S21) en R volgens deze van EUCAST). De stam vertoonde daarenboven een beperkte gevoeligheid voor gentamicine; MIC 2-4 mg/L). Wat betreft andere niet-geteste antibiotica, was de stam nog gevoelig voor colistine (MIC: 0.25 mg/L) en tigecycline (MIC: 0.5-1 mg/L). Als deze 2 antibiotica *in vitro* actief zijn, zijn ze enkel nuttig voor de behandeling van gecompliceerde infecties met *A. baumannii*, op voorwaarde dat ze in combinatie met een tweede middel toegediend worden (rifampicine, carbapenem, aminoglycoside).

De meerderheid van de deelnemers herkende het multiresistente karakter van de stam en zou ze naar een referentiecentrum doorsturen (hetzij om epidemiologische redenen, hetzij voor confirmatie van het resistentie-mechanisme). Het is echter verontrustend vast te stellen dat 25% van de deelnemers een *Acinetobacter* met een dergelijk multiresistent profiel niet

zou doorsturen, noch voor confirmatie, noch voor bepaling van het referentiemechanisme. Het zou interessant zijn te onderzoeken of de reden van het niet-doorsturen door deze laboratoria te wijten is aan het niet kennen van het belang van deze stammen zowel op therapeutisch vlak als op gebied van ziekenhuishygiëne of eventueel omwille van andere redenen (bv. economische).

Tenslotte lijkt het nuttig nogmaals te herhalen dat de fenotypische testen die de aanwezigheid van een synergie tussen imipenem of meropenem en EDTA (of dipicolinezuur) opsporen niet geschikt zijn om de aanwezigheid van oxacillinasen die carbapenems hydrolyseren bij *A. baumannii* te onderzoeken. Het is eerder het resistentieprofiel tegen carbapenems en de multiresistentie die moet doen denken aan de aanwezigheid van een resistentiemechanisme waarvan de bevestiging het gebruik van moleculaire testen (PCR-sequencing) vereist en die uitgevoerd kunnen worden in een referentielaboratorium.

Y. Glupczynski, UCL Mont-Godinne

2.4 Cultuur M/10812 Afwezigheid van pathogenen

De zending M/ 10812 was voorzien van volgende klinische inlichtingen:

Keeluitstrijk van een jongen van 4 jaar;

Kliniek: koorts en keelpijn bij de huisarts;

Gramkleuring: wat epitheelcellen en polynucleairen en mondflora; geen beeld van fusospirillaire associatie.

Identificatie tot op het speciesniveau is vereist.

Een *Streptococcus pneumoniae* was toegevoegd aan het staal.

De aanleiding van deze zending was een pediatrische casus waar een klinisch labo op het resultaat van een keelwisser vermeld had: "aanwezigheid van *S.pneumoniae* ++" (met bijhorend antibiogram). De correcte diagnose, een manifeste EBV primo-infectie, werd echter pas gesteld nadat het kind een fulminante rash ontwikkelde ten gevolge van de toediening van amoxicilline/clavulanaat door de kinderarts.

Faryngitis of keelontsteking is één van de meest frequente klachten waarvoor patiënten hun arts consulteren. Epidemiologie leert ons dat 70 tot 95 % van de keelontstekingen een virale oorzaak hebben. Rhino-, Parainfluenza-, Corona-, Adenovirussen maar ook Influenza A, EBV en CMV zijn frequente verwekkers. Slechts in 15-20 % van de gevallen bij kinderen en in minder dan 10 % bij volwassenen is de faryngitis bacterieel en dan is bijna steeds *Streptococcus pyogenes* de etiologische kiem. De link naar andere β -hemolytische streptokokken (C en G) als etiologische verwekker is veel minder duidelijk. Enkel de "large colony" *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis* werd, in outbreaks, in verband gebracht met faryngitis. Ook *Arcanobacterium haemolyticum* heeft de reputatie faryngitis te kunnen verwekken. Opvallend echter is dat het merendeel van de publicaties die over niet- *S. pyogenes* gerelateerde bacteriële faryngitis handelen dateren van vóór 1990. Virale diagnostiek en zeker moleculaire diagnostiek waren toen schaars en weinig verspreid.

Meer exotische verwekkers zoals *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Fusobacterium necrophorum* of *Mycoplasma pneumoniae* dienen enkel in welbepaalde gevallen te worden opgezocht en dus alleen wanneer de clinicus specifiek de vraag ernaar stelt.

S.pneumoniae echter behoort ontegensprekelijk tot de commensale flora van de mondholte (60% dragerschap bij kleine kinderen) en is nog nooit in verband gebracht met faryngitis.

Zinvol rapporteren:

De resultaten zijn bedroevend!

In bijna 40% van de laboratoria geeft men een resultaat door dat manifest verkeerd, onnuttig en/of verwarrend is en hoogstwaarschijnlijk zal leiden, net zoals bij het hoger vermelde kind, tot een antibiotherapie ("if you name it, the clinician will treat it" ⁴)

Ongeveer een derde van de deelnemers laat onzekerheid blijken: men schrijft wel "commensale flora" of "afwezigheid van pathogenen" maar vermeldt 'en passant' de aanwezigheid van "*Streptococcus pneumoniae*". Het is vroeger al herhaaldelijk aangehaald dat het specificeren van kiemen die tot de commensale flora behoren geen enkele toegevoegde waarde heeft maar integendeel de clinicus op het verkeerde been kan zetten.

In conclusie: Slechts minder dan één derde van alle deelnemende laboratoria (46/171: 27%) geeft zonder omwegen aan dat in dit staal geen kiemen werden aangetroffen die oorzaak kunnen zijn van faryngitis.

H. De Beenhouwer, OLVZ, Aalst

Referenties:

1. **Clinical microbiology procedures handbook. third ed**
Lynne S. Garcia HD editors. Washington, D.C.: ASM Press; 2010
2. **Investigation of throat swabs. National Standard Methods BSOP 9:**
<http://www.hpa-standardmethods.org.uk/documents/bsop/pdf/bsop9.pdf>
3. **Improving the Clinical Utility of Microbiology Data: An update**
Joan Barenfanger. Clinical Microbiology Newsletter - 1 January 2003 (Vol. 25, Issue 1, Pages 1-8)
4. **Quality assurances: Decreasing clinically irrelevant testing from clinical microbiology laboratories, part I**
Joan Barenfanger. Clinical Microbiology Newsletter - 1 February 2006 (Vol. 28, Issue 3, Pages 17-24)
5. **Quality assurances: Decreasing clinically irrelevant testing from clinical microbiology laboratories, part II**
Joan Barenfanger. Clinical Microbiology Newsletter - 15 February 2006 (Vol. 28, Issue 4, Pages 25-29)
6. **Managing microbiology specimen workups: Top 10 list of Do's and Don'ts**
Mary K. York Clinical Microbiology Newsletter - 1 June 2006 (Vol. 28, Issue 11, Pages 81-87)
7. **Streptococcal Pharyngitis**
Michael R. Wessels. N Engl J Med. 2011; 364: 648-655
8. **Pharyngitis, Bacterial:** <http://emedicine.medscape.com/article/225243-overview>
9. **Pharyngitis, Viral:** <http://emedicine.medscape.com/article/225362-overview>
10. **Nasopharyngeal Carriage of *Streptococcus pneumoniae* by Adults and Children in Community and Family Settings**
Gili Regev-Yochay et al. Clinical Infectious Diseases 2004; 38:632-9

Bijlage betreffende EKE 2010/3 M/10237 *S. gallolyticus*

Naar aanleiding van de problemen die een aantal laboratoria ondervonden bij de identificatie van stam M/10237, *S. gallolyticus* (EKE 2010/3) met Vitek, heeft de firma bioMérieux bijkomend onderzoek verricht naar de stam. U vindt hieronder hun besluit:

Identification comment :

Reference method: strain well identified by mass spectrometry method to *Streptococcus gallolyticus* ssp *gallolyticus* (100%).

Alternative methods:

-rapid ID32STREP strip: excellent identification to *Streptococcus gallolyticus* ssp *gallolyticus* (=Strepto. bovis I).

-COPRIM (API50CHS + rapid ID32STREP strips): after 48/72h very good identification to *Streptococcus gallolyticus* ssp *gallolyticus* (99,8%) with 2 tests against VP (99%) and β -MAN (25%)

On Vitek 2 (PC V4.02) with GP cards (customer lot:242191940 and random lot: 242193640), we obtained:

-with customer lot: a low discrimination between *Streptococcus gallolyticus* ssp *gallolyticus* (with 2 tests against APPA 81% and dSOR 1%) and *S. mutans* (test against PUL 1%)

-with random lot: excellent identification to *S. mutans* without test against.

Conclusion:

We reproduced the customer misidentification. The GP profiles for these species are near except for 2 discriminant tests: dSOR & APPA; so APPA - & dSOR + are in favor of *S. mutans*. These data and organism will be considered for future use in the knowledge base.

III. Resultaten van de identificaties

174 laboratoria hebben een antwoord ingestuurd. Naast 171 Belgische en Luxemburgse waren dit 2 andere buitenlandse en een firmalaboratorium. Deze laatste 3 werden niet in de verwerking der resultaten opgenomen.

De correcte of aanvaardbare resultaten zijn onderlijnd.

3.1. Cultuur M/7251 *Capnocytophaga sputigena* (hemocultuur)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Hemocultuur van een patiënt die intensieve chemotherapie ondergaat voor leukemie; hij vertoont mucositis en transiënte bacteriëmie. Identificatie tot op het genusniveau is vereist."

<u><i>Capnocytophaga sputigena</i></u>	13	7.6%
<u><i>Capnocytophaga species</i></u>	120	70.2%
<u><i>Capnocytophaga species</i> DF1</u>	6	3.5%
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	6	
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	12	
<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	3	
<i>Elizabethkingia species</i>	2	
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	1	
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	1	
<i>Leptotrichia species</i>	1	
<i>Mannheimia haemolytica</i>	1	
<i>Prevotella oralis</i>	1	
<i>Serratia species</i>	1	
Gramnegatieve anaërobe bacillen	2	
Gramnegatieve nonfermenterende bacillen	1	

Overzicht van de antwoorden op de vraag of dit staal in routine doorgestuurd zou worden:

Antwoord	N labo's
Epidemiologische redenen	2
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram ¹	57
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram	4
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram + hemokulturen worden slechts zelden in routine behandeld	1
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram + andere redenen (niet gepreciseerd)	1
Wordt niet doorgestuurd	99
Geen antwoord op de vraag	7
Totaal	171

¹ Twee laboratoria geven aan dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft en één laboratorium dat het enkel confirmatie van de identificatie betreft.

3.2. Cultuur M/10426 *Staphylococcus lugdunensis* (hemocultuur)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Hemocultuur van een patiënt met een katheterinfectie. Identificatie tot op het speciesniveau is vereist."

<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	163	95.3%
Coagulase negatieve stafylokok	2	
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	

Overzicht van de antwoorden op de vraag of dit staal in routine doorgestuurd zou worden:

Antwoord	N labo's
Epidemiologische redenen	2
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram ¹	21
Hemokulturen worden slechts zelden in routine behandeld	1
Andere redenen (niet gepreciseerd)	1
Wordt niet doorgestuurd	139
Geen antwoord op de vraag	7
Totaal	171

¹ Zes laboratoria geven aan dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft (1 laboratorium verwijst naar discordante resultaten tussen oxacilline en cefoxitine).

3.3. Cultuur M/10639 *Acinetobacter baumannii* (abdominale wonde)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Staal geïsoleerd uit een abdominale wonde, die door een vuurwapen veroorzaakt werd, van een 24-jarige patiënt die in Pakistan gehospitaliseerd was en vervolgens naar België gerepatriëerd werd. Identificatie tot op het speciesniveau is vereist."

<i>Acinetobacter baumannii</i>	144	84.2%
<i>Acinetobacter baumannii</i> complex	19	11.1%
<i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i>	3	1.8%
<i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i> complex	1	0.6%
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1	
<i>Acinetobacter</i> species	3	

Overzicht van de antwoorden op de vraag of dit staal in routine doorgestuurd zou worden:

Antwoord	N labo's
Epidemiologische redenen	37
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram ¹	23
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram ²	60
Epidemiologische redenen + andere redenen (niet gepreciseerd)	3
Epidemiologische redenen + dergelijke stam is nog nooit waargenomen in het ziekenhuis	1
Moleculaire bepaling	1
Reden doorstuur niet vermeld	1
Wordt niet doorgestuurd	39
Geen antwoord op de vraag	6
Totaal	171

¹ Acht laboratoria geven aan dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft, één dat het enkel confirmatie van de identificatie betreft en één vermeldt "indien we de anamnese kennen".

² Negentien laboratoria geven aan dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft (11 vermelden expliciet dat het de bepaling van het resistentiemechanisme betreft).

3.4. Cultuur M/10812 Niet-pathogenen (keeluitstrijkje)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: “Keeluitstrijk van een jongen van 4 jaar; kliniek: koorts en keelpijn bij de huisarts; gramkleuring: wat epitheelcellen en polynucleairen en mondflora; geen beeld van fusospirilaire associatie. Identificatie tot op het speciesniveau is vereist.”

Een *S. pneumoniae*, niet pathogeen voor de betrokken site, was aanwezig in het staal.

<u>Afwezigheid van pathogenen</u>	32	18.7%
<u>Afwezigheid van pathogenen</u> (maar vermelding van aanwezigheid/dragerschap van <i>S. pneumoniae</i>)	18	10.5%
<u>Commensale flora</u>	8	4.7%
<u>Commensale flora</u> (maar vermelding van aanwezigheid/dragerschap van <i>S. pneumoniae</i>)	9	5.3%
<u>Afwezigheid van streptokokken van groep A, C en G en van <i>A. haemolyticum</i></u> (maar vermelding van aanwezigheid/dragerschap van <i>S. pneumoniae</i>)	2	1.2%
<u>Afwezigheid van β-hemolytische streptokokken van groep A, C en G</u>	1	0.6%
<u>Afwezigheid van streptokokken van groep A, C en G</u>	1	0.6%
<u>Afwezigheid van β-hemolytische streptokokken van groep A</u>	1	0.6%
<u>Afwezigheid van β-hemolytische streptokokken van groep A</u> (maar vermelding van aanwezigheid/dragerschap van <i>S. pneumoniae</i>)	1	0.6%
<u>Afwezigheid van streptokokken van groep A</u>	1	0.6%
<u>Afwezigheid van streptokokken van groep A</u> (maar vermelding van aanwezigheid/dragerschap van <i>S. pneumoniae</i>)	2	1.2%
<u>Afwezigheid van β-hemolytische streptokokken</u>	2	1.2%
<u><i>S. pneumoniae</i> maar met vermelding dat deze niet pathogeen is voor deze site</u>	25	14.6%
<i>S. pneumoniae</i>	63	
<i>S. pneumoniae</i> met vermelding dat deze in dit geval als pathogeen beschouwd werd gezien de massieve aanwezigheid	1	
Negatief voor <i>S. pyogenes</i> , positief voor <i>S. pneumoniae</i>	1	
Reinkultuur van <i>S. pneumoniae</i> , afwezigheid van normale keelflora	1	
<i>S. oralis</i>	1	
<i>Gemella morbillorum</i>	1	

Overzicht van de antwoorden op de vraag of dit staal in routine doorgestuurd zou worden:

Antwoord	N labo's
Epidemiologische redenen ¹	7
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram ²	2
Andere redenen (niet gepreciseerd)	1
Wordt niet doorgestuurd	141
Geen antwoord op de vraag	20
Totaal	171

¹ Eén laboratorium vermeldt de stam enkel door te sturen als ze penicilline resistent is

² Eén laboratorium geeft aan dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft (als de stam oxacilline resistent is).

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.

Aantal deelnemers = 171

4.1 Cultuur M/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*)

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; in een aantal gevallen kwamen deze resultaten overeen; waar dit niet het geval was, werd er geopteerd om in onderstaande tabel het meest resistente resultaat weer te geven, tenzij het laboratorium zelf aangaf het meest gevoelige resultaat in routine te weerhouden.

Een aantal laboratoria voorzagen hun antwoord van een opmerking:

- β -lactamase negatief: 3 labo's
- β -lactamase positief: 1 labo
- PBP2a negatief: 1 labo
- cefinase negatief: 2 labo's
- cefinase positief: 1 labo
- gevoelig voor penicilline (cefinase negatief) en oxacilline (mecA gen negatief): 1 labo
- methicilline-gevoelige stafylokok, die echter een penicillinase bevat: resistentie tegen penicilline G, penicilline M en andere hydrolyseerbare penicillines (penicilline A, ticarcilline, piperacilline); gevoelig voor amoxicilline-clavulaanzuur en cefalosporines: 1 labo
- antibiogram wordt in routine doorgestuurd naar referentiecentrum: 1 labo
- resistentieregels voor *S. aureus* werden gevolgd: 1 labo

Tabel 4.1.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Penicilline		155	87 ¹	-	66 ²	2 ³
Oxacilline	S	150	124 ⁴	-	26 ⁵	-
Methicilline	S	8	7	-	1	-
Cefoxitine	S	128	111 ⁶	-	17 ⁷	-
Gentamicine	S	153	153	-	-	-
Vancomycine	S	161	158	-	2	1 ⁸
Chinolone						
Ciprofloxacin	S	50	50	-	-	-
Levofloxacin	S	77	76	-	1	-
Moxifloxacin	S	32	31	-	1	-
Ofloxacin	S	9	9	-	-	-
Chinolone ⁹	S	14	14	-	-	-

¹ Eén laboratorium gaf hierbij een opmerking: "Discordantie tussen schijfjes (S) en Vitek 2 (R); β -lactamase negatief. Conclusie: S

- ² Eén laboratorium vermeldde de aanwezigheid van een heterogene populatie.
- ³ Eén laboratorium gaf hierbij een opmerking: "Discordantie Rosco schijfje (R) Vitek (S); cefinasetest voor betalactamase is negatief. In praktijk doorsturen naar ref.lab voor bepaling met E-test."
Eén laboratorium antwoordde wel het resultaat van de MIC-bepaling met Vitek 2 compact (0.25 mg/L) maar gaf geen interpretatie
- ⁴ Tien laboratoria gaven hierbij een opmerking:
- Wij noteren een totaal tegengesteld resultaat m.b.t. cefoxitine met Vitek (R) en Rosco (S). Resultaat op Vitek in duplo uitgevoerd. *S. lugdunensis* is normaal een vrij gevoelige bacterie. In de praktijk controleren wij steeds discordanties op Vitek (cefoxitin en oxacilline niet zelfde resultaat) met tabletten. Ter info: een PBP2a sneltest was negatief. Naar de arts zouden wij een OXA-S resultaat doorgeven.
 - cfr manueel ABG (cefoxitine S)
 - discordantie tussen disk (S) en Vitek 2 (R). β -lactamase negatief
 - 1^e antibiogram op Vitek 2 compact geeft een resultaat R (MIC \geq 4) en cefoxitine met BioRad disks een resultaat S (\emptyset 30 mm.); 2^e en 3^e antibiogram op Vitek 2 compact geven een resultaat S (MIC 2) en cefoxitine met BioRad disks een resultaat S (\emptyset 30 mm.); →fout op Vitek? Deze Oxa R kan niet bevestigd worden met een andere kolonie
 - Discordantie cefoxitine met diffusietest (S), cefoxitinescreen op Vitek 2 en oxacilline op Vitek 2 (R): →doorstuur van de stam voor PCR-bepaling voor mec A. Overigens, PBP2a agglutinatie niet interpreteerbaar (controle +). Stam wordt als oxacilline S geantwoord, gezien de cefoxitinezone van 35 mm
 - Discordanties op Vitek oxa: R; cefoxitine: S; chinolones: S; manuele methode Rosco: geen discordanties: oxa: S, cefoxitine: S, chinolones: S. Confirmatie AB is wenselijk.
 - Antibiogram wordt in routine doorgestuurd naar referentielabo
 - Commentaar van het Osiris expertsysteem: *S. aureus* en *S. lugdunensis* waarvoor de diameter van cefoxitine \geq 22 mm is, moeten als oxacilline S geantwoord worden.
 - Vitek 2 compact wordt gecontroleerd door diffusietest. Dit resultaat wordt doorgegeven aan de clinicus.
 - oxacilline-cefoxitine discordantie tussen resultaat Vitek 2 (R) en Roscoschijfje cefoxitine (S). Volgens Rosco handleiding moet enkel cefoxitine getest worden: →in routine zullen we dus S doorgeven
- ⁵ Vier laboratoria gaven hierbij een opmerking:
- Stam door te sturen naar referentielaboratorium wegens discordante resultaten voor oxacilline en cefoxitine bekomen met Vitek 2 compact (R) en Rosco agar diffusie (S)
 - Cefoxitinescreen (MIC 6): negatief; oxacilline MIC \geq 4; PBP2'a negatief. Volgens richtlijnen CLSI/2008 moeten deze stammen als oxacilline R geantwoord worden: "omwille van uitzonderlijk voorkomen van resistentiemechanismen, andere dan mecA, worden isolaten die negatief zijn voor PBP2'a, maar voor wie oxa \geq 4 gerapporteerd als R. Deze isolaten kunnen gevoelig testen voor cefoxitine, diskdiffusie." Daarnaast, omwille van kliniek, zeker spelen naar behandeling toe en rapporteren als "MRSE".
 - Test Vitek cefoxitine screen negatief; oxacilline: MIC = 1 = S: →finaal resultaat R want cefoxitine R
 - heterogene populatie
- ⁶ Negen laboratoria gaven hierbij een opmerking:
- Wij noteren een totaal tegengesteld resultaat m.b.t. cefoxitine met Vitek (R) en Rosco (S). Resultaat op Vitek in duplo uitgevoerd. *S. lugdunensis* is normaal een vrij gevoelige bacterie. In de praktijk controleren wij steeds discordanties op Vitek (cefoxitin en oxa niet zelfde resultaat) met tabletten. Ter info: een PBP2a sneltest was negatief. Naar de arts zouden wij een OXA-S resultaat doorgeven.
 - discordantie tussen disk (S) en Vitek 2 (R). β -lactamase negatief
 - 1^e antibiogram op Vitek 2 compact geeft een resultaat R (MIC \geq 4) en cefoxitine met BioRad disks een resultaat S (\emptyset 30 mm.); 2^e en 3^e antibiogram op Vitek 2 compact geven een resultaat S (MIC 2) en cefoxitine met BioRad disks een resultaat S (\emptyset 30 mm.); →fout op Vitek? Deze Oxa R kan niet bevestigd worden met een andere kolonie
 - Discordantie cefoxitine met diffusietest (S), cefoxitinescreen op Vitek 2 en oxacilline op Vitek 2 (R): →doorstuur van de stam voor PCR-bepaling voor mec A. Overigens, PBP2a agglutinatie niet interpreteerbaar (controle +). Stam wordt als oxacilline S geantwoord, gezien de cefoxitinezone van 35 mm
 - Discordanties op Vitek oxa: R; cefoxitine: S; chinolones: S; manuele methode Rosco: geen discordanties: oxa: S, cefoxitine: S, chinolones: S. Confirmatie AB is wenselijk.
 - oxacilline-cefoxitine discordantie tussen resultaat Vitek 2 (R) en Roscoschijfje cefoxitine (S). Volgens Rosco handleiding moet enkel cefoxitine getest worden: →in routine zullen we dus S doorgeven
 - Antibiogram wordt in routine doorgestuurd naar referentielabo
 - Vitek cefoxitine screen test positief: moeilijke interpretatie; te controleren door opsporen van mecA gen
 - Vitek 2 compact wordt gecontroleerd door diffusietest. Dit resultaat wordt doorgegeven aan de clinicus.
- ⁷ Twee laboratoria gaven hierbij een opmerking:
- Stam door te sturen naar referentielaboratorium wegens discordante resultaten voor oxacilline en cefoxitine bekomen met Vitek 2 compact (R) en Rosco agar diffusie (S)

- Cefoxitinescreen (MIC 6): negatief; oxacilline MIC ≥ 4 ; PBP2'a negatief. Volgens richtlijnen CLSI/2008 moeten deze stammen als oxacilline R geantwoord worden: "omwille van uitzonderlijk voorkomen van resistentiemechanismen, andere dan mecA, worden isolaten die negatief zijn voor PBP2'a, maar voor wie oxa ≥ 4 gerapporteerd als R. Deze isolaten kunnen gevoelig testen voor cefoxitine, diskdiffusie." Daarnaast, omwille van kliniek, zeker spelen naar behandeling toe en rapporteren als "MRSE".

⁸ Eén laboratorium vermeldt dat de MIC-bepaling noodzakelijk is

⁹ Een aantal laboratoria vermelden de naam van het gebruikte chinolone niet

Voor de PRP en/of cefoxitine-bepaling stellen we vast:

- 60 laboratoria testen één antibioticum:
 - o 40 oxacilline
 - o 19 cefoxitine
 - o 1 methicilline
- 107 laboratoria testen twee antibiotica:
 - o 104 oxacilline + cefoxitine
 - o 2 oxacilline + methicilline
 - o 1 methicilline + oxacilline
- 1 laboratorium test de 3 antibiotica

De resultaten in de tabellen 4.1.2. tot en met 4.1.9 zijn de finale resultaten (na eventuele wijziging via toepassing der expert-regels voor de vermelde technieken).

Niet alle deelnemers vermeldden 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 vermeldden een andere lading dan de aangewezen lading of vermeldden de lading niet; deze laboratoria werden niet in de berekening der medianen, minimum en maximum opgenomen.

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/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

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	17 (17)	6 ¹	40	32 – 50	17	-	-	-
Oxacilline	11 (15)	1	20	18 – 32	15	-	-	-
Methicilline	1 (1)	30	28	28 – 28	1	-	-	-
Cefoxitine	31 (34)	30	32	22 – 41	33	-	1	-
Gentamicine	14 (15)	10	28	20 – 32	15	-	-	-
Vancomycine	13 (13)	30	21	18 – 27	11	-	-	2 ²
Chinolone								
Ciprofloxacin	12 (12)	5	32	27 – 44	12	-	-	-
Levofloxacin	3 (5)	5	34	32 – 34	5	-	-	-
Moxifloxacin	1 (1)	5	34	34 – 34	1	-	-	-
Ofloxacin	3 (3)	5	29	24 – 32	3	-	-	-

¹ 6 µg = 10U

² Eén laboratorium vermeldt dat de MIC-bepaling (die het zelf niet uitvoert) noodzakelijk is. Een tweede laboratorium verwijst naar het resultaat (S) van de MIC-bepaling die het uitgevoerd heeft.

Zoals in voorgaande rapporten vermeldden wij voor de Neosensitabs schijfjes de schijfjes met klassieke Neosensitabs ladingen (“old”) en met de nieuwe ladingen (“new”) afzonderlijk. 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 tabel 4.1.9 a en b.

Tabel 4.1.3.a. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (klassieke Neosensitabs ladingen) voor staal M/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*)

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	24 (30) ¹	5	36.5	29 – 44	29	-	1
Oxacilline	24 (29) ²	1	23	18 – 30	28	-	1
Cefoxitine	16 (32) ³	60	36	30 – 45	32	-	-
Gentamicine	19 (23) ⁴	40	31	25 – 36	23	-	-
Vancomycine	16 (23) ⁵	5	19	16 – 24	21	-	2
Chinolone							
Ciprofloxacin	15 (17) ⁶	10	32	29 – 42	17	-	-
Levofloxacin	4 (5)	5	31	26 – 34	5	-	-
Moxifloxacin	2 (2)	5	33	28 – 38	2	-	-
Ofloxacin	3 (3)	10	32	32 – 34	3	-	-

¹ Tevens antwoordde één labo ≥26 mm, één labo >28 mm en twee labo's > 30 mm.

² Tevens antwoordde één labo >28 mm en één labo > 30 mm.

³ Tevens antwoordde één labo >28 mm en twee labo's > 30 mm.

⁴ Tevens antwoordde één labo >28 mm en één labo > 30 mm.

⁵ Tevens antwoordde één labo >28 mm.

⁶ Tevens antwoordde één labo >28 mm

Tabel 4.1.3.b. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

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	* (2) ¹	* ¹	-	-	2	-	-
Methicilline	1 (1)	10	30	30 – 30	1	-	-
Cefoxitine	5 (6)	30	34	31 – 35	6	-	-
Gentamicine	2 (2)	10	28.5	27 – 30	2	-	-
Vancomycine	* (1) ²	* ²	-	-	1	-	-
Chinolone							
Ciprofloxacine	* (1) ²	* ²	-	-	1	-	-
Moxifloxacine	1 (1)	5	30	30 – 30	1	-	-
Chinolone	1 (1)	5	28	28 – 28	1	-	-

¹ Beide laboratoria vermeldden het gebruik van een verschillende lading.

² Eén laboratorium vermeldde de gebruikte ladingen voor vancomycine en ciprofloxacine niet.

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/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Penicilline	6	6 x S	2 x 0.064 mg/L; 2 x 0.094 mg/L; 1 x 0.1 mg/L; 1 x MIC-waarde niet vermeld
Oxacilline	6	6 x S	2 x 0.38 mg/L; 1 x 0.5 mg/L; 1 x 1 mg/L; 2 x MIC-waarde niet vermeld
Cefoxitine	1	1 x S	2 mg/L
Gentamicine	2	2 x S	0.094 mg/L; 0.125 mg/L
Vancomycine	3	3 x S	3 x 1 mg/L
Chinolone			
Ciprofloxacine	1	1 x S	0.125 mg/L
Chinolone	1	1 x S	0.125 mg/L

Twee laboratoria bepaalden de MIC-waarde voor penicilline met de MICE-test: beiden bekwamen een MIC van 0.06 mg/L (interpretatie “S”). Eveneens twee laboratoria gebruikten deze techniek voor de bepaling van de MIC-waarde voor vancomycine, met als respectievelijke resultaten 1.5 mg/L en 2 mg/L (interpretatie in beide gevallen “S”).

Eén laboratorium bepaalde de MIC-waarde voor penicilline met de MIC test Strip: 0.032 mg/L (“S”).

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/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibioticum	Vitek 2						Vitek 2 compact					
	Finaal resultaat				Meest vermelde MIC waarde (mg/L)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Finaal resultaat				Meest vermelde MIC waarde (mg/L)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R	*			S	I	R	*		
Penicilline	13 ¹	-	39 ²	1 ³	0.25	39 (53)	7	-	25	1 ⁴	0.25	21 (33)
Oxacilline	42 ⁵	-	10 ⁶	-	2	23 (52)	14 ⁷	-	17 ⁸	-	2	15 (31)
Methicilline	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	- (1)
Cefoxitine	19 ⁹	-	7	-	Screen	- (26)	7 ¹⁰	-	10 ¹¹	-	Screen	- (17)
Gentamicine	59	-	-	-	≤0.5	56 (59)	34	-	-	-	≤0.5	33 (34)
Vancomycine	60	-	-	-	≤0.5	56 (60)	35	-	-	-	≤0.5	31 (35)
Chinolone												
Ciprofloxacin	3 ¹²	-	-	-	≤0.12 en ≤ 0.5	1 et 1 (3)	2 ¹³	-	-	-	≤0.5	1 (2)
Levofloxacin	39	-	-	-	≤0.12	35 (39)	26	-	-	-	≤0.12	17 (26)
Moxifloxacin	19	-	-	-	≤0.25	19 (19)	7	-	-	-	≤0.25	7 (7)
Chinolone	5	-	-	-	≤0.12	4 (5)	3	-	-	-	3 ≠ MIC-waarde niet vermeld ¹⁴	- (3)

¹ Eén laboratorium gaf hierbij een opmerking: "Discordantie tussen schijfjes (S) en Vitek 2 (R); β-lactamase negatief. Conclusie: S.

Een ander laboratorium verwijst naar het manueel antibiogram om het ruwe resultaat "R" naar het finale "S" aan te passen.

² Eén laboratorium vermeldt de aanwezigheid van een dubbele populatie met respectievelijke MIC-waarden van 0.12 mg/L en ≥ 0.5 mg/L (slotconclusie: R).

³ Eén laboratorium gaf hierbij de opmerking: "Discordantie Rosco (R) schijfje Vitek (S); cefinasetest voor betalactamase is negatief. In praktijk doorsturen naar ref.lab voor bepaling met E-test."

⁴ Eén laboratorium antwoordt wel het resultaat van de MIC-bepaling met Vitek 2 compact (0.25 mg/L) maar geen interpretatie

⁵ Vier laboratoria verstrekken een uitleg bij dit antwoord:

- Eén laboratorium verwijst naar het manueel antibiogram om het finale antwoord "S" te verstrekken.
- Discordantie cefoxitine met diffusietest (S), cefoxitinescreen op Vitek 2 en oxacilline op Vitek 2 (R): →doorstuur van de stam voor PCR-bepaling voor mec A. Overigens, PBP2a agglutinatie niet interpreteerbaar (controle +). Stam wordt als oxacilline S geantwoord, gezien de cefoxitinezone van 35 mm
- discordantie tussen disk (S) en Vitek 2 (R). β-lactamase negatief
- oxacilline-cefoxitine discordantie tussen resultaat Vitek 2 (R) en Roscoschijfje (S) cefoxitine. Volgens Rosco handleiding moet enkel cefoxitine getest worden: →in routine zullen we dus S doorgeven

⁶ Eén laboratorium vermeldt de aanwezigheid van een dubbele populatie met respectievelijke MIC-waarden van 1 mg/L en ≥ 4 mg/L (slotconclusie: R).

⁷ Twee laboratoria verstrekken een uitleg bij dit antwoord:

- 1^e antibiogram op Vitek 2 compact geeft een resultaat R (MIC ≥4) en cefoxitine met BioRad disks een resultaat S (Ø 30 mm.); 2^e en 3^e antibiogram op Vitek 2 compact geven een resultaat S (MIC 2) en cefoxitine met BioRad disks een resultaat S (Ø 30 mm.); →fout op Vitek? Deze Oxa R kan niet bevestigd worden met een andere kolonie
- Vitek 2 compact wordt gecontroleerd door diffusietest. Dit resultaat wordt doorgegeven aan de clinicus.

⁸ Eén laboratorium vermeldde wel het resultaat R voor Vitek 2 compact doch voegde volgende opmerking eraan toe: "Wij noteren een totaal tegengesteld resultaat m.b.t. cefoxitine met Vitek (R) en Rosco (S). Resultaat op Vitek in duplo uitgevoerd. *S. lugdunensis* is normaal een vrij gevoelige bacterie. In de praktijk controleren wij steeds discordanties op Vitek (cefoxitin en oxa niet zelfde resultaat) met tabletten. Ter info: een PBP2a sneltest was negatief. Naar de arts zouden wij een OXA-S resultaat doorgeven."

Twee andere laboratoria gaven volgende opmerkingen:

- Stam door te sturen naar referentielaboratorium wegens discordante resultaten voor oxacilline en cefoxitine bekomen met Vitek 2 compact (R) en Rosco agar diffusie (S)

- Cefoxitinescreen (MIC 6): negatief; oxacilline MIC ≥ 4 ; PBP2'a negatief. Volgens richtlijnen CLSI/2008 moeten deze stammen als oxacilline R geantwoord worden: "omwille van uitzonderlijk voorkomen van resistentiemechanismen, andere dan mecA, worden isolaten die negatief zijn voor PBP2'a, maar voor wie oxa ≥ 4 gerapporteerd als R. Deze isolaten kunnen gevoelig testen voor cefoxitine, diskdiffusie." Daarnaast, omwille van kliniek, zeker spelen naar behandeling toe en rapporteren als "MRSE".
- ⁹ Twee laboratoria gaven hierbij een opmerking:
 - oxacilline-cefoxitine discordantie tussen resultaat Vitek 2 (R) en Roscoschijfje (S) cefoxitine. Volgens Rosco handleiding moet enkel cefoxitine getest worden: →in routine zullen we dus S doorgeven
 - discordantie tussen disk (S) en Vitek 2 (R). β -lactamase negatief
- ¹⁰ Eén laboratorium gaf hierbij een opmerking: "Vitek 2 compact wordt gecontroleerd door diffusietest. Dit resultaat wordt doorgegeven aan de clinicus."
- ¹¹ Eén laboratorium vermeldde wel het resultaat R voor Vitek 2 compact doch voegde volgende opmerking eraan toe: "Wij noteren een totaal tegengesteld resultaat m.b.t. cefoxitine met Vitek (R) en Rosco (S). Resultaat op Vitek in duplo uitgevoerd. *S. lugdunensis* is normaal een vrij gevoelige bacterie. In de praktijk controleren wij steeds discordanties op Vitek (cefoxitin en oxa niet zelfde resultaat) met tabletten. Ter info: een PBP2a snelttest was negatief. Naar de arts zouden wij een OXA-S resultaat doorgeven." Twee andere laboratoria gaven volgende opmerkingen:
 - Stam door te sturen naar referentielaboratorium wegens discordante resultaten voor oxacilline en cefoxitine bekomen met Vitek 2 compact (R) en Rosco agar diffusie (S)
 - Cefoxitinescreen (MIC 6): negatief; oxacilline MIC ≥ 4 ; PBP2'a negatief. Volgens richtlijnen CLSI/2008 moeten deze stammen als oxacilline R geantwoord worden: "omwille van uitzonderlijk voorkomen van resistentiemechanismen, andere dan mecA, worden isolaten die negatief zijn voor PBP2'a, maar voor wie oxa ≥ 4 gerapporteerd als R. Deze isolaten kunnen gevoelig testen voor cefoxitine, diskdiffusie." Daarnaast, omwille van kliniek, zeker spelen naar behandeling toe en rapporteren als "MRSE".
- ¹² Eén laboratorium verklaarde dat het resultaat voor ciprofloxacin afgeleid werd van het resultaat voor levofloxacin (dat niet geantwoord wordt).
- ¹³ Eén laboratorium verklaarde dat het resultaat voor ciprofloxacin afgeleid werd van het resultaat voor levofloxacin (dat niet geantwoord wordt).
- ¹⁴ Met name < 0.12 , 0.25 en ≤ 0.5 mg/L.

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

- voor penicilline vonden 3 laboratoria een MIC van 0.06 mg/L en 6 laboratoria een MIC van 0.12 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact bekwam 1 laboratorium een MIC van 0.06 mg/L, 7 laboratoria een MIC van 0.12 mg/L en 2 een MIC ≥ 0.5 mg/L
- voor oxacilline vonden 4 deelnemers een MIC van 0.5 mg/L, 17 laboratoria een MIC van 1 mg/L en 4 een MIC ≥ 4 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact bekwam 1 laboratorium een MIC van 0.5 mg/L, 3 een MIC van 1 mg/L en 7 laboratoria een MIC ≥ 4 mg/L
- voor vancomycine bekwam 1 laboratorium een MIC van 1 mg/L met Vitek 2 en 1 laboratorium een MIC van 1 mg/L met Vitek 2 compact
- voor levofloxacin bekwam 1 laboratorium een MIC ≤ 0.5 mg/L en 7 laboratoria een MIC ≤ 0.25 mg/L voor Vitek 2; met Vitek 2 compact vonden 2 laboratoria een MIC van 0.25 mg/L

Aangezien de resultaten bekomen met de Vitek enigszins afweken van de andere, heeft de firma bioMérieux deze stam onderzocht. U vindt hieronder het besluit van dit onderzoek:

Investigation answer

Expected phenotype wild.

We duplicated the PEN R result and OXA MIC near the breakpoint on AST cards.

We observed on graph an atypical growth in the well PEN 0,125mg/L and a low growth on the OXA PC well: that could lead a MIC determination error.

We will keep these data and organism for future evolution of our knowledge base."

De resultaten bekomen met de ATB methode worden weergegeven in tabel 4.1.6.

Tabel 4.1.6. Resultaten bekomen met de ATB methode voor staal M/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Penicilline	3	-	-
Oxacilline	4	-	-
Methicilline	1	-	-
Gentamicine	3	-	-
Vancomycine	4	-	-
Chinolone			
Levofloxacin	2	-	1
Moxifloxacin	-	-	1
Chinolone	1	-	-

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.1.7.

Tabel 4.1.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibioticum	Resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/l)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Oxacilline	10	-	-	0.5	7 (10)
Cefoxitine	9	-	-	≤2	8 (10)
Gentamicine	11	-	-	≤1	11 (11)
Vancomycine	11	-	-	≤0.5	9 (11)
Chinolone					
Ciprofloxacin	9	-	-	≤0.25	5 (9)
Chinolone	1	-	-	0.25	1 (1)

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

- voor oxacilline vonden 2 laboratoria een MIC ≤0.25 mg/L en 1 laboratorium een MIC van 1 mg/L
- voor cefoxitine vond 1 laboratorium een MIC van 0.5 mg/L
- voor vancomycine vond 1 laboratorium een MIC ≤1 mg/L
- voor ciprofloxacin vonden 3 laboratoria een MIC ≤0.125 mg/L en 1 laboratorium een MIC van 0.5 mg/L

De resultaten bekomen met de toestellen Osiris en Sirscan worden weergegeven in tabel 4.1.8. en 4.1.9 a en b Gezien de meeste 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/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

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)	6 ¹	35	35 – 40	5	-	-
Oxacilline	5 (5)	1	20	6 – 21	5 ²	-	-
Methicilline	1 (1)	30	31	31 – 31	1	-	-
Cefoxitine	5 (5)	30	32	29 -35	5	-	-
Gentamicine	2 (2)	10	25	23 – 27	2	-	-
Vancomycine	4 (4)	30	19.5	17 – 21	4	-	-
Chinolone							
Ciprofloxacin	3 (3)	5	33	27 – 35	3	-	-
Levofloxacin	1 (1)	5	27	27 – 27	1	-	-
Moxifloxacin	1 (1)	5	35	35 – 35	1	-	-

¹ 6 µg = 10U

² Commentaar van het Osiris expertsysteem: *S. aureus* en *S. lugdunensis* waarvoor de diameter van cefoxitine ≥22 mm is, moeten als oxacilline S geantwoord worden

Tabel 4.1.9.a. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (klassieke Neosensitabs ladingen) voor staal M/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

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	6 (6)	5	36	31 – 42	6	-	-
Oxacilline	6 (6)	1	21	19 – 26	6	-	-
Cefoxitine	6 (6)	60	34	31 – 38	6	-	-
Gentamicine	5 (5)	40	34	28 – 39	5	-	-
Vancomycine	4 (5)	5	21.5	21 – 26	5	-	-
Chinolone							
Ciprofloxacin	2 (2)	10	33	30 – 36	2	-	-
Levofloxacin	1 (1)	5	37	37 – 37	1	-	-
Moxifloxacin	1 (1)	5	30	30 – 30	1	-	-
Ofloxacin	2 (2)	10	34.5	33 – 36	2	-	-

Tabel 4.1.9.b. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

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	8 (8)	10	38	34 – 43	8	-	-
Oxacilline	5 (5)	1	25	20 – 28	5	-	-
Cefoxitine	7 (7)	30	30	22 – 35	7	-	-
Gentamicine	5 (5)	10	28	27 – 34	5	-	-
Vancomycine	7 (7)	30	20	19 – 26	7	-	-
Chinolone							
Ciprofloxacin	5 (5)	5	31	25 – 35	5	-	-
Moxifloxacin	1 (1)	5	29	29 – 29	1	-	-
Chinolone	2 (2)	5	40.5	38 – 43	2	-	-

We moeten verder nog vermelden dat:

- één laboratorium de Microscan gebruikt heeft voor het testen van de gevoeligheid voor penicilline, oxacilline, cefoxitine, gentamicine, vancomycine en een chinolone (met resultaat “S” voor al deze antibiotica)
- twee laboratoria de chromid MRSA bodem van bioMérieux en één laboratorium de MRSA select bodem van Biorad gebruikt hebben voor het testen van de gevoeligheid voor methicilline (telkens met resultaat “S”)
- één laboratorium cefoxitine als gevoelig beschouwd zonder vermelding van de gebruikte techniek
- één laboratorium de vancoscreen bodem gebruikt heeft voor het testen van de gevoeligheid voor vancomycine (met resultaat “S”)
- één laboratorium vancomycine als gevoelig beschouwd op basis van “cefodoxitine 60 µg (Neosensitabs) inhibitiezone >15mm.: vancomycine S”

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:
 - S→R
 - Rosco klassiek: 1 labo
 - Vitek 2 compact: 1 labo
 - R→S
 - Vitek 2: 4 labo's (gebaseerd op de resultaten van het manueel antibiogram; cfr. supra)
 - Vitek 2 compact: 1 labo (gebaseerd op de resultaten van het manueel antibiogram; cfr. supra)
- Oxacilline:
 - S→R
 - Rosco klassiek: 1 labo

- Vitek 2: 4 labo's
 - Vitek 2 compact: 4 labo's
- R→S
 - Osiris: 1 labo (op basis van het Osiris expert systeem: cfr. supra)
- Cefoxitine
 - S→R
 - Papieren schijfjes: 1 labo
 - Vitek 2: 1 labo
 - Vitek 2 compact: 2 labo's
 -
 - R→S
 - Vitek 2: 4 labo's (3 gebaseerd op de resultaten van het manueel antibiogram; cfr. supra)
 - Vitek 2 compact: 1 labo (gebaseerd op de resultaten van het manueel antibiogram; cfr. supra)

4.2 Cultuur M/10639(Acinetobacter baumannii)

Niet alle deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor alle antibiotica. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid met meer dan 1 methode; meestal kwamen deze resultaten overeen; waar dit niet het geval was, werd er geopteerd om in onderstaande tabel 4.2.1. het meest resistente resultaat weer te geven.

Ook voor dit antibiogram voorzagen een aantal laboratoria hun antwoord van een opmerking:

- Aanwezigheid van een metallo- β -lactamase
- Test carbapenemase/metallo- β -lactamase: 4 mm verschil tussen meropenem en meropenem + dipicolinezuur: →mogelijk metallo- β -lactamase
- Moleculaire testen nodig om metallo- β -lactamase op te sporen
- Meropenem + dipicolinezuur getest: test was negatief: er werd geen metallo- β -lactamase geproduceerd
- Metallo- β -lactamase negatief
- Aanwezigheid van een carbapenemase
- Mogelijkheid van een carbapenemase
- Stam produceert hoogstwaarschijnlijk een carbapenemase, gezien inhibitie door toevoeging van EDTA (schijfjesmethode) betreft het mogelijks een type NDM-1
- NDM-1?
- Ceftazidime + clavulaanzuur R: ESBL +
- ESBL + stam, met resistentie tegen alle β -lactams met inbegrip van de carbapenems. Multi-PCR positief voor PER/VEB (PER = meest waarschijnlijke). Stam is gevoelig voor minocycline (\emptyset = 20 mm) en tobramycine (\emptyset = 18 mm; E-test = 1.5 mg/L) maar resistent tegen rifampicine (\emptyset = 7 mm.)
- Multiresistente bacterie. De standaardregels voor hygiëne moeten strikter toegepast worden. Isolatie aangewezen.

Tabel 4.2.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/10639 (Acinetobacter baumannii).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Piperacilline-tazobactam	R	160	-	-	160	-
Ceftazidime	R	171	-	-	171	-
Cefepime	R	155	-	-	155	-
Meropenem	R	152	-	-	152	-
Amikacine	I	164	79	30	54 ¹	1 ²
Colistine	S	111	100	1	4	6 ³
Ciprofloxacin	R	168	1	-	167	-
Levofloxacin	R	100	-	-	100	-

¹ Discordant AB voor amikacine: AB op Vitek 2 compact R; AB met papieren schijfjes Biorad S (op Vitek 2 compact gentamicine en tobramycine S (MIC \leq 1); met schijfjes gentamicine en tobramycine S (\emptyset 16 mm. en 17 mm.):→stam moet doorgestuurd worden voor bevestiging van het AB).

² Eén labo vermeldt wel de diameter die het bekwam met papieren schijfjes (8 mm.) maar geeft hiervoor geen interpretatie.

³ Eén labo vermeldt dat een MIC-bepaling noodzakelijk is. Vijf andere laboratoria laten de interpretatie open (2 onder hen vermelden dat er bij CLSI geen interpretatiecriteria voor Acinetobacter bestaan).

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

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

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/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Piperacilline-tazobactam	19 (24)	100 + 10	6	6 – 8	-	-	24	-
Ceftazidime	27 (27)	30	6	5 – 7	-	-	27	-
Cefepime	21 (21)	30	6	5 – 7	-	-	21	-
Meropenem	21 (23)	10	6	5 – 10	-	-	23	-
Amikacine	27 (28)	30	13	7 – 17	2	4	21 ¹	1 ²
Colistine	12 (15)	10	13.5	12 – 17	11	-	-	4 ³
Ciprofloxacin	22 (23)	5	6	6 – 7	-	-	23	-
Levofloxacin	10 (11)	5	6	6 – 7	-	-	11	-

¹ Discordant AB voor amikacine: AB op Vitek 2 compact R; AB met papieren schijfjes Biorad S (op Vitek 2 compact gentamicine en tobramycine S (MIC≤1); met schijfjes gentamicine en tobramycine S (Ø 16 mm. en 17 mm.);→stam moet doorgestuurd worden voor bevestiging van het AB).

² Eén labo vermeldt wel de diameter die het bekam met papieren schijfjes (8 mm.) maar geeft hiervoor geen interpretatie.

³ Eén labo vermeldt dat een MIC-bepaling noodzakelijk is. Drie andere laboratoria laten de interpretatie open (2 onder hen vermelden dat er bij CLSI geen interpretatiecriteria voor *Acinetobacter* bestaan).

Zoals in voorgaande rapporten vermeldden wij voor de Neosensitabs schijfjes de schijfjes met klassieke Neosensitabs ladingen ("old") en met de nieuwe ladingen ladingen ("new") afzonderlijk. 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 (klassieke Neosensitabs ladingen) voor staal M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Piperacilline-tazobactam	21 (25) ¹	100+10	9	9 – 11	-	-	25
Ceftazidime	23 (28) ²	30	9	9 – 10	-	-	28
Cefepime	19 (25) ³	30	9	9 – 10	-	-	25
Meropenem	25 (30)	10	11	9 - 14	-	-	30
Amikacine	30 (35)	40	18	9 - 22	9	17	7
Colistine	17 (23)	150	21	17 – 25	19	1	3
Ciprofloxacine	21 (25) ⁴	10	9	9 – 10	1	-	24
Levofloxacine	10 (12)	5	9	9-10	-	-	12

¹ Tevens antwoordde één labo een diameter < 9mm.

² Tevens antwoordde twee labo's een diameter < 9mm.

³ Tevens antwoordde één labo een diameter < 9mm.

⁴ Tevens antwoordde één labo een diameter < 9mm.

Tabel 4.2.3.b. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Piperacilline-tazobactam	2 (4)	100 + 10	9	9 – 9	-	-	4	-
Ceftazidime	2 (4)	30	9	9 – 9	-	-	4	-
Meropenem	1 (2)	10	9	9 – 9	-	-	2	-
Amikacine	2 (3)	30	14	13 – 15	-	1	2	-
Colistine	2 (3)	10	23.5	21 – 26	2	-	-	1 ¹
Ciprofloxacine	2 (3)	5	9	9 – 9	-	-	3	-
Levofloxacine	1 (1)	5	9	9 – 9	-	-	1	-

¹ Eén laboratorium laat de interpretatie open.

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/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Piperacilline-tazobactam	2	2 x R	2 x ≥ 256 mg/L
Ceftazidime	1	1 x R	≥ 256 mg/L
Cefepime	2	2 x R	2 x ≥ 256 mg/L
Meropenem	5	5 x R	1 x 24 mg/L; 4 x ≥ 32 mg/L
Amikacine	4	2 x I	16 mg/L; 32 mg/L
		2 x R	2 X 64 mg/L
Colistine	11	11 x S	0.064 mg/L; 0.09 mg/L; 0.094 mg/L; 0.125 mg/L; 0.19 mg/L; 0.25 mg/L; 2 x 0.5 mg/L; 2 x 1 mg/L; 1.5 mg/L
Ciprofloxacin	2	2 x R	2 x ≥ 32 mg/L
Levofloxacin	2	2 x R	2 x ≥ 32 mg/L

Eén laboratorium gebruikte de MICE-test: voor meropenem (MIC 32 mg/L; interpretatie R) en voor colistine (MIC: 0.38 mg/L; interpretatie S).

Drie laboratoria gebruikten de MIC Test strip: één voor ceftazidime (MIC >256 mg/L; interpretatie R) en twee voor colistine (MIC-waarden respectievelijk 0.5 mg/L en 0.75 mg/L; interpretatie S in beide gevallen).

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

Tabel 4.2.5. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibioticum	Vitek 2					Vitek 2 compact				
	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/L)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/L)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
S	I	R	S			I	R			
Piperacilline-tazobactam	-	-	58	≥ 128	55 (58)	-	-	35	≥ 128	33 (35)
Ceftazidime	-	-	59	≥ 64	56 (59)	-	-	35	≥ 64	33 (35)
Cefepime	-	-	57	≥ 64	54 (57)	-	-	37	≥ 64	35 (37)
Meropenem	-	-	50	≥ 16	48 (50)	-	-	31	≥ 16	28 (31)
Amikacine	41	4	3	8	31 (48)	27 ¹	2	3	8	14 (32)
Colistine	23	-	-	≤ 0.5	22 (23)	9	-	1	≤ 0.5	8 (10)
Ciprofloxacin	-	-	59	≥ 4	56 (59)	-	-	35	≥ 4	33 (35)
Levofloxacin	-	-	42	≥ 8	38 (42)	-	-	24	≥ 8	22 (24)

¹ Discordant AB voor amikacine: AB op Vitek 2 compact R; AB met papieren schijfjes Biorad S (op Vitek 2 compact gentamicine en tobramycine S (MIC \leq 1); met schijfjes gentamicine en tobramycine S (\emptyset 16 mm. en 17 mm.):→stam moet doorgestuurd worden voor bevestiging van het AB).

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

- voor meropenem vond 1 laboratorium een MIC van 32 mg/L met Vitek 2 compact
- voor amikacine vonden 3 laboratoria een MIC van 4 mg/L met Vitek 2 en 2 deze waarde met Vitek 2 compact; 11 laboratoria vonden een MIC van 16 mg/L met Vitek 2 en 13 deze waarde met Vitek 2 compact
- voor colistine vond 1 laboratorium een MIC van 1 mg/L met Vitek 2 en 1 laboratorium een MIC van 4 mg/L met Vitek 2 compact
- voor levofloxacin vond 1 deelnemer een MIC >4 mg/L en 1 een MIC >16 mg/L met Vitek 2

De resultaten bekomen met de ATB methode worden weergegeven in tabel 4.2.6.

Tabel 4.2.6. Resultaten bekomen met de ATB methode voor staal M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Piperacilline-tazobactam	-	-	3
Ceftazidime	-	-	5
Cefepime	-	-	3
Meropenem	-	-	3
Amikacine	1	2	3
Colistine	5	-	-
Levofloxacin	-	-	5

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.2.7.

Tabel 4.2.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibioticum	Resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/l)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Piperacilline-tazobactam	-	-	9	>16/4	8 (9)
Ceftazidime	-	-	9	>8	8 (9)
Cefepime	-	-	8	>8	7 (8)
Meropenem	-	-	9	>8	9 (9)
Amikacine	-	-	10	≥16	9 (10)
Colistine	7	-	-	≤1	7 (7)
Ciprofloxacin	-	-	10	>1	9 (10)
Levofloxacin	-	-	7	>2	7 (7)

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

- voor piperacilline-tazobactam vond 1 laboratorium een MIC >64/4 mg/L
- voor ceftazidime vond 1 deelnemer een MIC >16 mg/L
- voor cefepime vond 1 deelnemer een MIC >16 mg/L
- voor amikacine vond 1 deelnemer een MIC >32 mg/L

De resultaten bekomen met de toestellen Osiris en Sirscan worden weergegeven in tabel 4.2.8. en 4.2.9 a en b. Gezien de meeste 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/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Piperacilline-tazobactam	5 (6)	100+10	9	6 – 9	-	-	6	-
Ceftazidime	3 (4)	30	6	6 – 6	-	-	4	-
Cefepime	4 (4)	30	6	6 – 6	-	-	4	-
Meropenem	5 (5)	10	8	6 – 10	-	-	5	-
Amikacine	5 (5)	30	13	11 – 15	-	1	4	-
Colistine	3 (4)	50	18	17 – 18	3	-	-	1 ¹
Ciprofloxacine	5 (5)	5	6	6 – 6	-	-	5	-
Levofloxacine	1 (1)	5	6	6 – 6	-	-	1	-

¹ Eén labo laat de interpretatie open.

Tabel 4.2.9.a. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (klassieke Neosensitabs ladingen) voor staal M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Piperacilline-tazobactam	6 (6)	100+10	9	9 – 10	-	-	6
Ceftazidime	6 (6)	30	9	9 – 10	-	-	6
Cefepime	6 (6)	30	9	9 – 10	-	-	6
Meropenem	6 (6)	10	11.5	9 – 13	-	-	6
Amikacine	6 (6)	40	19.5	18 – 21	4	1	1
Colistine	4 (4)	150	23	20 – 37	4	-	-
Ciprofloxacin	5 (5)	10	9	9 – 10	-	-	5
Levofloxacin	2 (2)	5	9.5	9 – 10	-	-	2

Tabel 4.2.9.b. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Piperacilline-tazobactam	7 (7)	100+10	9	8 -9	-	-	7
Ceftazidime	7 (7)	30	9	6 -9	-	-	7
Cefepime	7 (7)	30	9	6 -9	-	-	7
Meropenem	6 (6)	10	10.5	9 – 12	-	-	6
Amikacine	8 (8)	30	12.5	8 – 19	1	1	6
Colistine	4 (5)	150	21.5	19 – 25	5	-	-
Ciprofloxacin	7 (7)	5	9	6 -9	-	-	7
Levofloxacin	7 (7)	5	9	6 -9	-	-	7

We moeten verder nog vermelden dat:

- één laboratorium de Microscan gebruikt heeft voor het testen van de gevoeligheid voor ceftazidime, cefepime, meropenem, amikacine, ciprofloxacin, levofloxacin (telkens resultaat “R”) en colistine (met resultaat “S”); een 2^e laboratorium gebruikte de Microscan voor bepalen van de gevoeligheid voor colistine (met resultaat “S”)
- één laboratorium ciprofloxacin als gevoelig beschouwde op basis van het resultaat van ofloxacin en één laboratorium levofloxacin als gevoelig beschouwde op basis van het resultaat van ciprofloxacin

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:

- amikacine:
 - o $S \rightarrow I$
 - Rosco klassiek: 1 labo
 - Vitek 2: 3 labo's
 - o $S \rightarrow R$
 - Vitek 2: 3 labo's
 - o $I \rightarrow R$
 - Rosco klassiek: 2 labo's
 - Rosco "nieuw": 1 labo
 - Sirscan klassiek: 1 labo
 - o $I \rightarrow S$
 - Rosco klassiek: 1 labo

Ter gelegenheid van deze enquête vroegen we ook aan de laboratoria welk ander antibioticum, dat mogelijk actief kan zijn, ze zouden suggereren om voor deze stam te testen. Het overzicht van de antwoorden op deze vraag wordt weergegeven in onderstaande tabel. Een aantal laboratoria, die (sommige van) de door ons voorgestelde antibiotica in routine niet testen, hebben deze in hun antwoord op deze vraag opgenomen. Sommige laboratoria stelden voor om meer dan 1 bijkomend AB te testen.

Tabel 4.2.10. Bijkomende antibiotica gesuggereerd door de laboratoria om te testen voor staal M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

	Voorgesteld antibioticum	N labo's
1 AB	Tigecycline	84
	Colistine	8
	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	3
	Gentamicine	3
	Rifampicine	3
	Imipenem	2
	Minocycline	2
	Aztreonam	1
	Doripenem	1
	Polymyxine B	1
	Sulbactam (o.w.v. synergistisch effect met ticarcilline)	1
	Tetracyclines (doxycycline, minocycline)	1
	Ander carbapenem	1
2 AB	Colistine – Tigecycline	13
	Gentamicine – Tigecycline	3
	Rifampicine – Tigecycline	3
	Gentamicine – Tobramycine	3
	Aztreonam – Tigecycline	2
	Doxycycline – Tigecycline	2
	Aztreonam – Colistine	1
	Colistine – Doxycycline	1
	Colistine – Gentamicine	1
	Colistine – Imipenem	1
	Colistine – Rifampicine	1
	Doxycycline – Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1
	Minocycline – Tigecycline	1
	Moxifloxacin - Tobramycine	1
	Tigecycline – Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1
	Tigecycline – 2 ^e AB om in combinatie met colistine te gebruiken (fosfomycine IV, aztreonam, rifampicine,...)	1
	3 AB	Aztreonam – Fosfomycine – Rifampicine
Colistine – Rifampicine – Tigecycline		2
Chloramphenicol – Rifampicine – Tigecycline		1
Colistine – Gentamicine – Rifampicine		1
Gentamicine – Tigecycline - Tobramycine		1
Imipenem – Minocycline – Rifampicine		1
Aminoglycosiden – Polymyxines – Tigecycline		1
4 AB	Aztreonam – Colistine – Fosfomycine – Rifampicine	1
	Aztreonam – Colistine – Tigecycline – Ampicilline/sulbactam	1
5 AB	Gentamicine – Netilmycine – Tigecycline - Trimethoprim/Sulfamethoxazole – Tobramycine	1

Acht laboratoria vermelden tigecycline getest te hebben, met als resultaat "gevoelig". Eén van deze 8 heeft eveneens doxycycline getest met eenzelfde resultaat. Eén laboratorium vermeldt dat de stam gentamicine-gevoelig is; een ander dat ze doripenem-resistent is. Eén laboratorium vermeldt dat colistine nooit in monotherapie gegeven mag worden (en vermeldt eveneens rifampicine). Eén vermeldt dat rifampicine samen met hoge dosissen colistine gegeven moet worden (verwijzing naar Sanford guide). Eén labo vermeldt dat rifampicine, fosfomycine of aztreonam eventueel gecombineerd kunnen worden met hoge dosissen colistine.

V. Parasitologie

5.1. De monsters

Ter gelegenheid van deze enquête werd 1 bloeditstrijkje verzonden. Daarnaast werden de parasieten uit een ander uitstrijkje onder vorm van foto's op de website voorgesteld. 172 laboratoria namen deel aan de enquête.

Het aantal laboratoria toolkit gebruikers bedroeg 70.9%. 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 laboratoria fouten vermeden kunnen worden: schrijffouten, gebruik van oudere codes, encodagefouten,...

De stalen waren vergezeld van volgende klinische informatie:

Staal P/10324:

“De patiënt is een veertigjarige man die de laatste vijf jaar een belangrijk deel van het jaar woont in West Afrika (vooral Kameroen). Hij was op het ogenblik van de staalname met verlof in België en kwam zelf met de diagnose 'malaria' naar het ziekenhuis. Werd ambulantly behandeld.”

Staal P/10813:

“Een Kongolese patiënt wordt door zijn huisarts doorverwezen naar het hospitaal wegens subfebriliteit en gedaalde nierfunctie. Bij opname worden volgende klachten weerhouden: vermagering ++ sinds 2-3 maanden, geen eetlust, hij hoest dagelijks sinds 1 maand (het hele gezin (ouders + 2 kinderen) schijnt in 2006 TB te hebben gehad). Geen diarree, geen koorts. Er wordt een klassiek bloedonderzoek uitgevoerd en op basis van de afwijkende resultaten wordt beslist een uitstrijkje uit te voeren.”

Staal P/10324 bevatte trofozoïeten en gametocyten van *Plasmodium falciparum*.

Staal P/10324 werd met didactische bedoelingen verstuurd.

De foto's van staal P/10813 toonden microfilaria van *Loa loa* en *Mansonella perstans*.

Staal P/10813 werd met didactische bedoelingen op de website geplaatst.

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.

Wij stellen vast dat ter gelegenheid van deze enquête nog steeds enkele laboratoria oudere codes gebruikt hebben. Wij willen er op aandringen dat u de meest recente codes gebruikt (indien u de laatste versie niet meer ter beschikking hebt, kan u deze terugvinden op onze website op de pagina http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/Index_NL.htm) of gebruik maakt van de Toolkit (waar de identificaties en evolutiestadia onder vorm van aflopende lijsten aangeboden worden).

5.2. Resultaten voor staal P/10324

De 172 laboratoria leverden 220 antwoorden in. 126 laboratoria antwoordden één parasiet, 44 laboratoria antwoordden 2 parasieten en 2 laboratoria antwoordden 3 parasieten.

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven :

Tabel 5.2.1. Resultaten voor staal P/10324

Resultaat	Aantal laboratoria
<i>Plasmodium falciparum</i>	136
<i>Plasmodium species</i>	24
<i>Plasmodium non-falciparum</i>	18
<i>Plasmodium malariae</i>	27
<i>Plasmodium ovale</i>	12
<i>Plasmodium vivax</i>	1
<i>Babesia species</i>	1
<i>Pentatrichomonas hominis</i>	1
Totaal	220

Een Aantal laboratoria vermeldden de mogelijkheid van een menginfectie zonder evenwel een 2^e parasiet te antwoorden: 9 labo's die *P. falciparum* antwoordden, één dat *P. ovale* antwoordde en 1 dat *Plasmodium species* antwoordde.

De combinaties van 2 parasieten welke door de laboratoria geantwoord werden, worden in onderstaande tabel weergegeven.

Tabel 5.2.2. Combinatie van 2 parasieten geantwoord voor staal P/10324

Combinatie van parasieten	Aantal laboratoria
<i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium malariae</i>	21
<i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium non-falciparum</i>	12
<i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium ovale</i>	7
<i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium vivax</i>	1
<i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium species</i>	1
<i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Pentatrichomonas hominis</i>	1
<i>Plasmodium non-falciparum</i> + <i>Plasmodium species</i>	1
Totaal	44

Het ene laboratorium dat 3 parasieten antwoordde, gaf de combinatie *P. falciparum* + *P. non-falciparum* + *Plasmodium species*; het andere *P. falciparum* + *P. ovale* + *Plasmodium species*.

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Plasmodium falciparum* worden in tabel 5.2.3. weergegeven. 57 laboratoria hebben 1 evolutiestadium geantwoord, 66 laboratoria hebben 2 evolutiestadia geantwoord en 13 hebben drie evolutiestadia geantwoord.

Tabel 5.2.3. Evolutiestadia voor *Plasmodium falciparum* voor staal P/10324

Stades d'évolution	Aantal laboratoria
Trofozoïet	131
Gametocyt	69
Schizont	22
Rijpe of oudere schizont	4
Jonge schizont	2
Totaal	228

De combinaties van evolutiestadia voor *Plasmodium falciparum* worden in tabel 5.2.4. weergegeven.

Tabel 5.2.4. Combinaties van de evolutiestadia die voor *Plasmodium falciparum* voor staal P/10324 geantwoord werden

Aantal laboratoria evolutiestadia	Evolutiestadium	Aantal laboratoria
1 evolutiestadium	Trofozoïet	52
	Gametocyt	5
2 evolutiestadia	Trofozoïet + gametocyt	51
	Trofozoïet + schizont	12
	Trofozoïet + jonge schizont	2
	Trofozoïet + oudere schizont	1
3 evolutiestadia	Trofozoïet + gametocyt + schizont	10
	Trofozoïet + gametocyt + oudere schizont	3
Totaal		136

Voor *Plasmodium falciparum* geven we voor de trofozoïeten, gametocyten en schizonten de aantallen weer in volgende tabellen.

Tabel 5.2.5. Mediaan, minimum en maximum voor trofozoïet voor *Plasmodium falciparum* voor staal P/10324 (uitgedrukt in ‰).

Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
98	8	1	50

Tevens antwoordden 9 laboratoria <1, 5 laboratoria 1 à 2, 6 antwoordden 2 à 3, 4 antwoordden 3 à 4 en 9 antwoordden 5 à 10.

Tabel 5.2.6. Mediaan, minimum en maximum voor gametocyt voor *Plasmodium falciparum* voor staal P/10324 (uitgedrukt in ‰).

Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
23	1	1	10

Tevens antwoordden 38 laboratoria <1, 3 laboratoria 1 à 2, 1 antwoordde 2 à 3, 1 antwoordde 3 à 4 en 2 antwoordden 5 à 10.

Tabel 5.2.7. Mediaan, minimum en maximum voor schizont voor *Plasmodium falciparum* voor staal P/10324 (uitgedrukt in ‰).

Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
5	2	1	5

Tevens antwoordden 16 laboratoria <1 en 1 labo 2 à 3.

Voor de oude schizonten antwoordden 2 laboratoria <1‰, één antwoordde 2‰ en één laboratorium antwoordde 10‰.

Voor de jonge schizonten antwoordde 1 laboratorium <1‰ en 1 laboratorium 1‰.

119 laboratoria hebben vermeld dat ze het staal in routine naar een referentiecentrum zouden doorsturen voor (bevestiging van) de identificatie. Vier vermeldden dat ze een antigentest zouden uitvoeren.

Commentaar over *P. falciparum*

Staal P/10324 bevatte trofozoïeten en gametocyten van *Plasmodium falciparum*.

Groep	Antwoord	Commentaar	Score (n, %)
Groep I	<i>P. falciparum</i>	Correct	91 (53%)
Groep II	<i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium malariae</i> <i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium non-falciparum</i> <i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium ovale</i> <i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium vivax</i> <i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium species</i> <i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Pentatrichomonas hominis</i> <i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium non-falciparum</i> + <i>Plasmodium species</i> <i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium ovale</i> + <i>Plasmodium species</i>	Minor error Aanvaardbaar	45 (26%)
Groep III	<i>Plasmodium species</i> <i>Plasmodium non-falciparum</i> <i>Plasmodium malariae</i> <i>Plasmodium ovale</i> <i>Babesia species</i> <i>Plasmodium non-falciparum</i> + <i>Plasmodium species</i>	Major error*	36 (21%)

*Als 'major error' wordt beschouwd het missen van een *P. falciparum*, het verkeerdelijk antwoorden van een *P. falciparum* en het zich niet uitspreken over de al dan niet aanwezigheid van een *P. falciparum* (antwoorden van *Plasmodium species*). De reden daarvoor is de therapeutische aanpak die verschilt bij een infectie met *P. falciparum* zowel naar de keuze van producten als naar dringendheid toe.

M. Van Esbroeck, IMT

5.3 Resultaten voor staal P/10813

De 172 laboratoria leverden 269 antwoorden in. 78 laboratoria antwoordden één parasiet, 91 laboratoria antwoordden 2 parasieten en 3 laboratoria antwoordden 3 parasieten.

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.3.1. Resultaten voor staal P/10813

Resultaat	Aantal
<i>Loa loa</i>	163
<i>Mansonella perstans</i>	94
<i>Mansonella ozzardi</i>	1
<i>Mansonella streptocerca</i>	1
<i>Wuchereria bancrofti</i>	7
<i>Brugia malayi</i>	1
Microfilaria zonder parasiet te preciseren	2
Totaal	269

Onderstaande tabel geeft een overzicht van de laboratoria die 1 parasiet vermeld hebben.

Tabel 5.3.2. Resultaten van de labo's die 1 parasiet vermeld hebben voor staal P/10813

Resultaat	Aantal
<i>Loa loa</i>	72
<i>Mansonella perstans</i>	3
<i>Mansonella ozzardi</i>	1
<i>Wuchereria bancrofti</i>	1
Microfilaria zonder parasiet te preciseren	1
Totaal	78

De combinaties van 2 parasieten welke door de laboratoria geantwoord werden, worden in onderstaande tabel weergegeven.

Tabel 5.3.3. Combinatie van 2 parasieten geantwoord voor staal P/10813

Combinatie van parasieten	Aantal
<i>Loa loa</i> + <i>Mansonella perstans</i>	86
<i>Loa loa</i> + <i>Mansonella streptocerca</i>	1
<i>Loa loa</i> + <i>Wuchereria bancrofti</i>	1
<i>Mansonella perstans</i> + <i>Wuchereria bancrofti</i>	2
<i>Brugia malayi</i> + microfilaria zonder parasiet te preciseren	1
Totaal	91

De drie laboratoria die 3 parasieten antwoordden, gaven de combinatie *L. loa* + *M. perstans* + *W. bancrofti*.

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Loa loa* worden in volgende tabel weergegeven. Alle laboratoria antwoordden één evolutiestadium.

Tabel 5.3.4. Evolutiestadia voor *Loa loa* voor staal P/10813

Evolutiestadium	Aantal
Microfilaria	157
Volwassen vorm	5
Hematofaag vegetatieve vorm	1
Totaal	163

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Mansonella perstans* worden in volgende tabel weergegeven. Alle laboratoria antwoordden één evolutiestadium.

Tabel 5.3.5. Evolutiestadia voor *Mansonella perstans* voor staal P/10813

Evolutiestadium	Aantal
Microfilaria	91
Volwassen vorm	2
Microfilaria	1
Totaal	94

117 laboratoria hebben vermeld dat ze het staal in routine naar een referentiecentrum zouden doorsturen voor (bevestiging van) de identificatie.

Commentaar over *L. loa* en *M. perstans*

Zesentachtig van de 172 laboratoria (50%) antwoordden de combinatie *Loa loa* en *Mansonella perstans* (vroeger *Dipetalonema perstans*). De meeste laboratoria die de aanwezigheid van één soort antwoordden, identificeerden microfilariae van *Loa loa*.

Foto's van parasieten interpreteren op een computer is niet gemakkelijk. In de routinepraktijk zou het de voorkeur genieten de plaatjes op te vragen om ze microscopisch te bekijken. De werkwijze met foto's biedt wel de mogelijkheid een mooie vondst als deze te gebruiken voor de EKE.

Voor een overzicht van de kenmerken van de microfilariae die men bij de mens kan aantreffen, wordt verwezen naar de tekstboeken.

De aanwezigheid van een schede is een belangrijk kenmerk en kleuringen die de schede kleuren, vergemakkelijken de differentiatie. Bij dit staal waren de plaatjes gekleurd met een May-GrünwaldGiemsa-kleuring die de schede niet kleurt. De aanwezigheid ervan kan in zulk geval vermoed worden op basis van de afwezigheid van de rode bloedcellen waardoor een soort halo-beeld te zien is rond de microfilaria.

De kromming van de microfilariae is een kenmerk dat bij deze EKE niet gebruikt kon worden. Vooral de microfilariae van *Loa loa* vertoonden een weinig kronkelende tot zelfs rechte vorm. Dit effect is gekend na fixatie van het staal in formol maar is bij dit staal niet de reden.

Bij foto's 1-5 kan op basis van volgende kenmerken van de microfilariae besloten worden tot *Loa loa*: aanwezigheid van een schede, lengte van de wormen van $\pm 300 \mu\text{m}$, dikte van $\pm 7 \mu\text{m}$, kernen die dicht opeen liggen, een kort kernloos stuk in de kop en de aanwezigheid van kernen tot op einde van de staart.

Bij foto's 6 tot 9 kan op basis van volgende kenmerken van de microfilariae besloten worden tot *Mansonella perstans*: afwezigheid van een schede, lengte van de wormen van $\pm 200 \mu\text{m}$, dikte $\pm 4 \mu\text{m}$, kernen tot in staart, de laatste kern die wat dikker is.

Vooral bij dubbelinfecties als deze is te zien, dat de microfilariae van *Mansonella perstans* kleiner en vooral dunner zijn.

Filariosen bij de mens zijn ziekten die overgedragen worden door verschillende soorten insecten in tropische en subtropische regio's. De distributie van de filaria species is gerelateerd aan het voorkomen van hun vector. Sommige species zijn medisch zeer goed gekend door hun opvallende klinische beeld zoals *Wuchereria bancrofti* en *Brugia malayi* die lymfoedeem en elefantiasis veroorzaken en *Onchocerca volvulus* die blindheid en ernstige dermatitis veroorzaakt. De overige filaria waaronder *Loa loa* en *Mansonella perstans* worden als minder pathogeen beschouwd en zijn minder bestudeerd.

Filariae of draadwormen behoren tot de klasse der nematoden of rondwormen. Ze danken hun naam aan het feit dat ze zo dun zijn in vergelijking met hun lengte.

De wormen zijn vivipaar of levendbarend, wat wil zeggen dat de eieren al in de uterus uitkomen. Bij sommige soorten is een residuele membraan van het ei aanwezig, de

schede. De vrouwelijke wormen produceren larven, microfilariae, die tot meer dan een jaar in het lichaam van de menselijke gastheer in leven kunnen blijven.

Loa loa komt voor in de regenwoudgebieden van Centraal en West-Afrika. *Mansonella perstans* is wijd verspreid in Afrika en komt in het noordoosten van Zuid-Amerika meer lokaal voor. Daar de geografische gebieden van *Loa loa* en *Mansonella perstans* overlappen is het niet uitzonderlijk dat men ze samen aantreft in een bloedstaal van een patiënt.

De bekendste symptomen van een *Loa loa* infectie zijn de episodes van lokaal oedeem of de Calabar zwellingen die optreden door verplaatsing van de volwassen wormen (waarbij ook migratie onder de conjunctiva kan optreden) of door de intermitterende uitscheiding van grote aantallen microfilariae. Een filariose met *Mansonella perstans* is vaak asymptomatisch. Een aantal symptomen en allergische reacties worden toegeschreven aan deze parasiet maar het ziektespectrum staat niet helemaal vast. Sommige beschreven kenmerken zijn wellicht te wijten aan een niet-onderkende dubbelinfectie of worden verklaard door de hoge eosinofilie zelf die met filariosen gepaard gaat. In tegenstelling tot *Loa loa* migreren de volwassen wormen van *Mansonella perstans* niet en zal men ze slechts occasioneel aantreffen (bv. bij een laparotomie). Ze resideren in lichaamsholten (pleuraal, pericardiaal en peritoneaal) en in het perirenale vet.

De diagnose van filariosen wordt gesteld door detectie van microfilariae in perifeer bloed (bij sommige soorten in een skin snip) in een dikke druppelpreparaat of een bloeduitstrijkje. De gevoeligheid van het onderzoek kan verhoogd worden door een concentratietechniek (Knott of nucleopore filter). Voor sommige microfilariae is het van belang rekening te houden met de periodiciteit. *Loa loa* heeft een diurne periodiciteit, de aantallen microfilariae in het perifere bloed zijn overdag het grootst. De microfilariae van *Mansonella perstans* circuleren zonder periodiciteit. Wanneer geen microfilariae worden gevonden, sluit dat een infectie niet uit. De microfilariae zijn pas na vele maanden na de infectie aantoonbaar en bij chronische infecties zijn vaak te weinig microfilariae aanwezig om gedetecteerd te worden.

De behandeling is afhankelijk van de soort. Bij *Loa loa* is het belangrijk de grootte van de microfilaremie te kennen omdat die bepaalt of corticoïden en eventueel antihistaminica geassocieerd worden om ernstige reacties door de behandeling tegen te gaan. De aanwezigheid van *Mansonella perstans* leidt niet noodzakelijk tot behandeling. De aanwezigheid van een co-infectie kan implicaties hebben op de behandeling. Zo kunnen ernstige complicaties optreden bij een (massa)behandeling van onchocerciasis met ivermectine waarbij de aanwezigheid van *Loa loa* niet onderkend wordt. Niet alleen de aanwezigheid van microfilariae is dus belangrijk maar ook de identificatie van de verschillende soorten en de microfilaremie.

Marjan Van Esbroeck, ITG Antwerpen

Foto 1

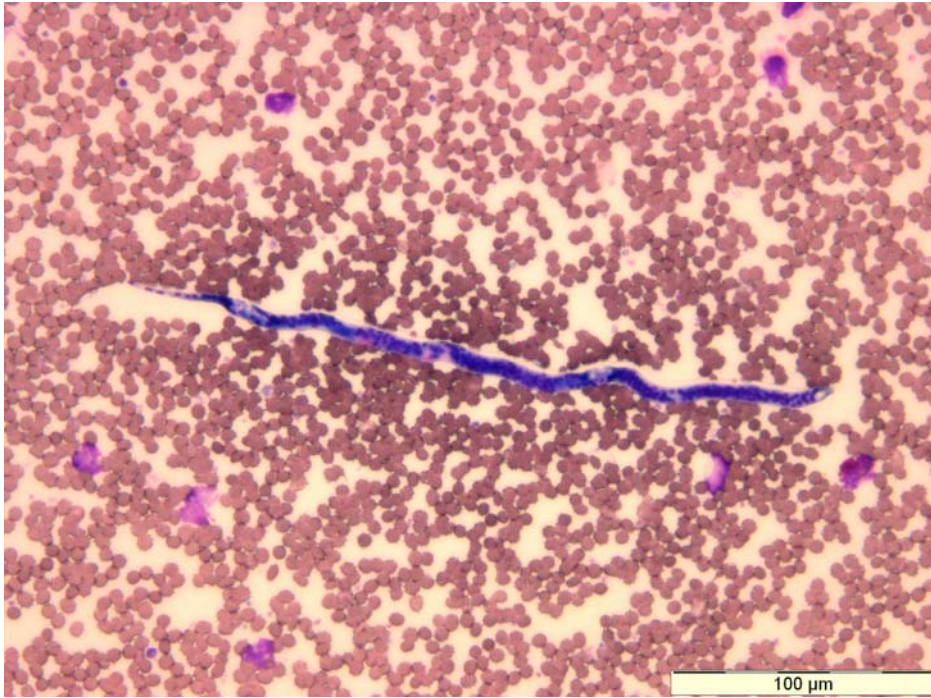


Foto 2

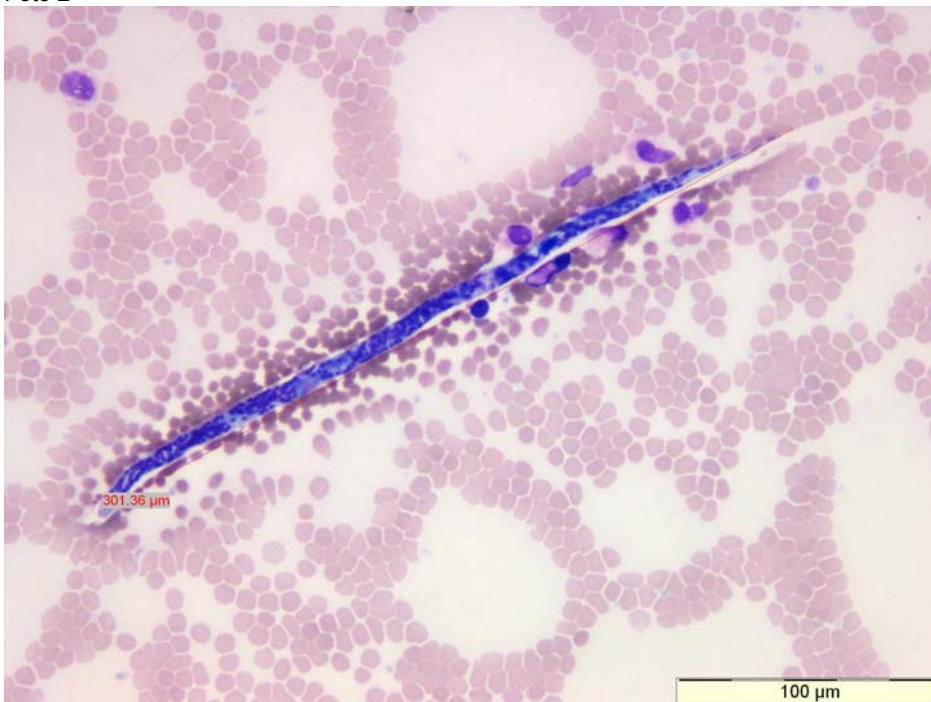


Foto 3

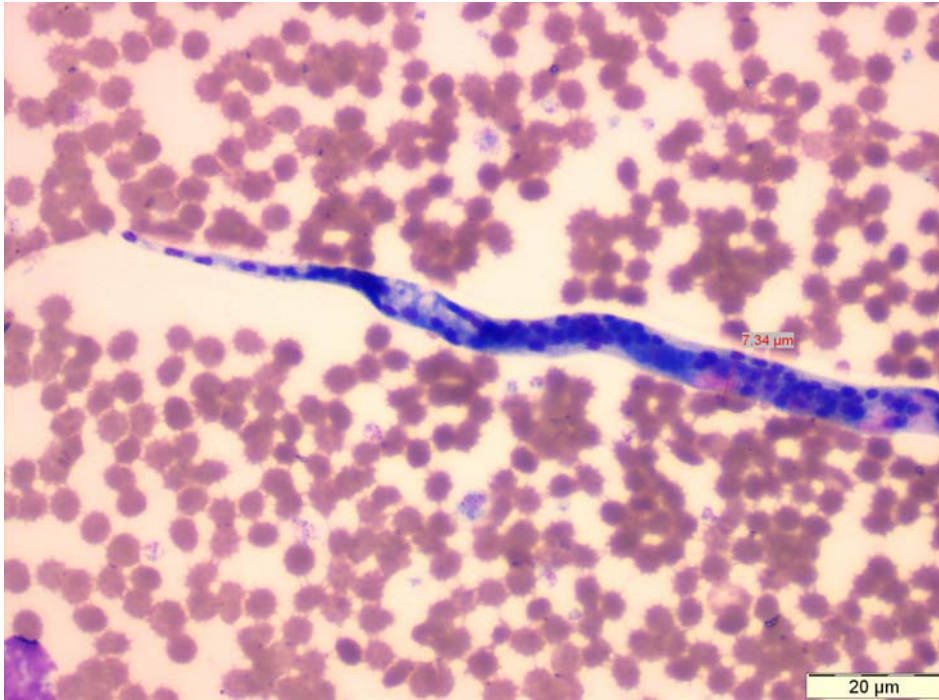


Foto 4

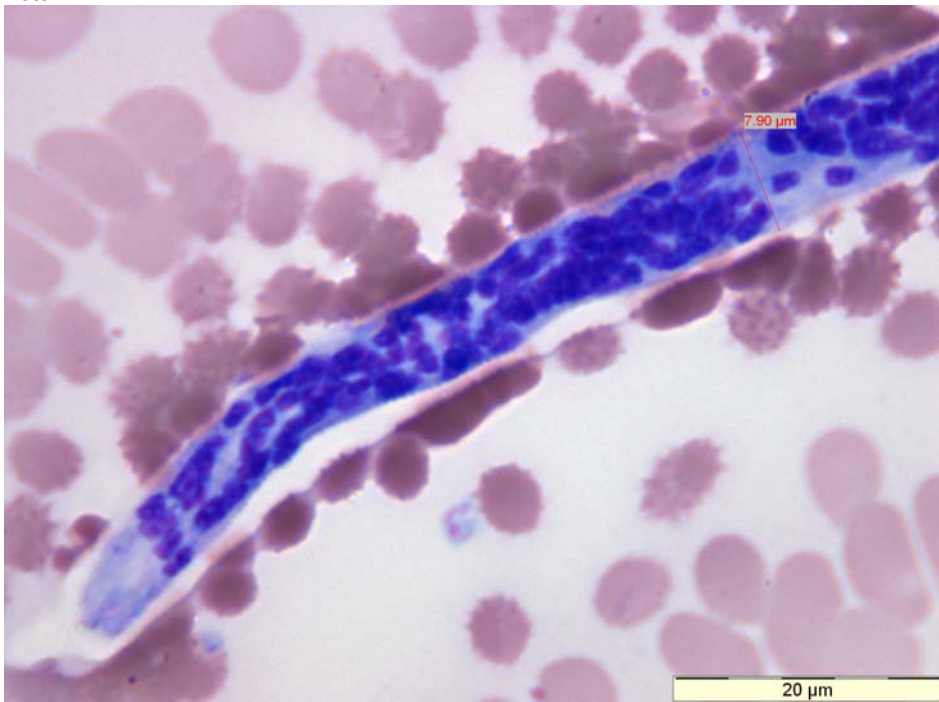


Foto 5

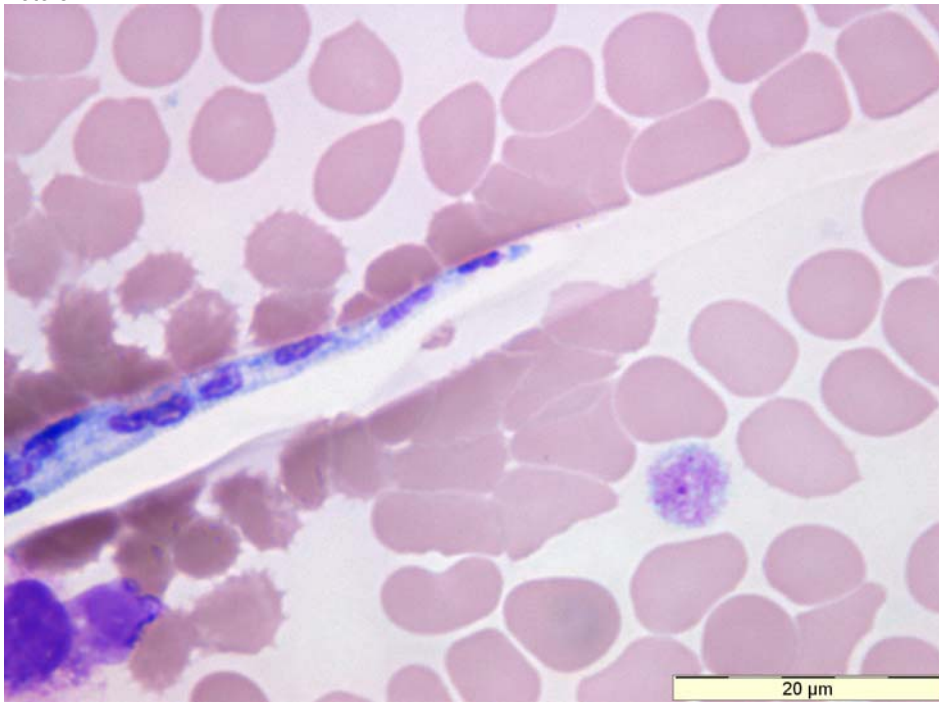


Foto 6



Foto 7

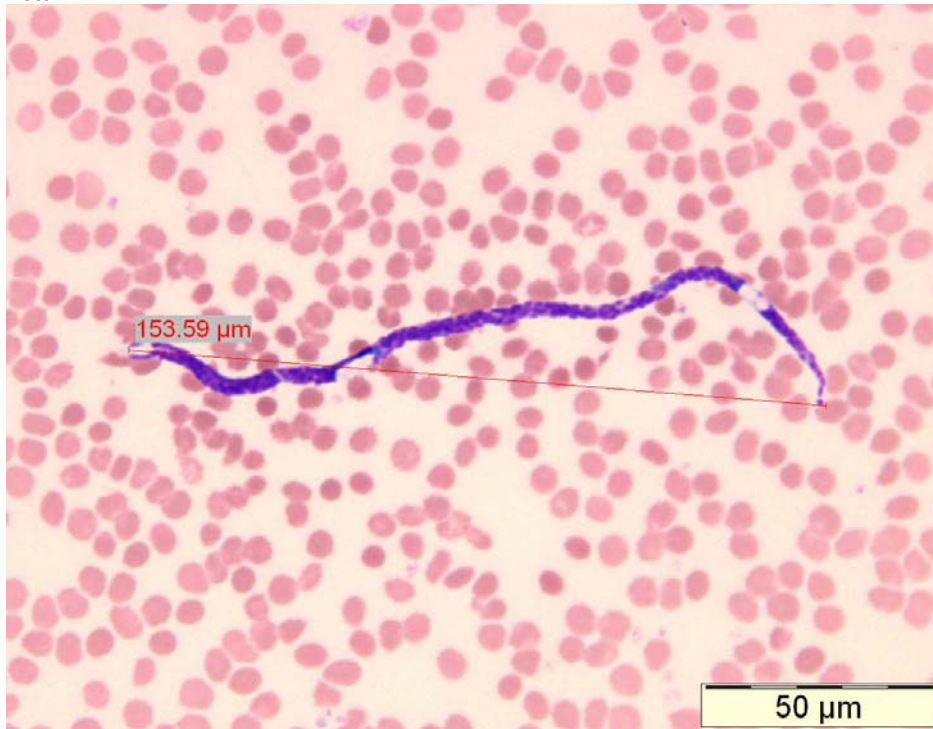
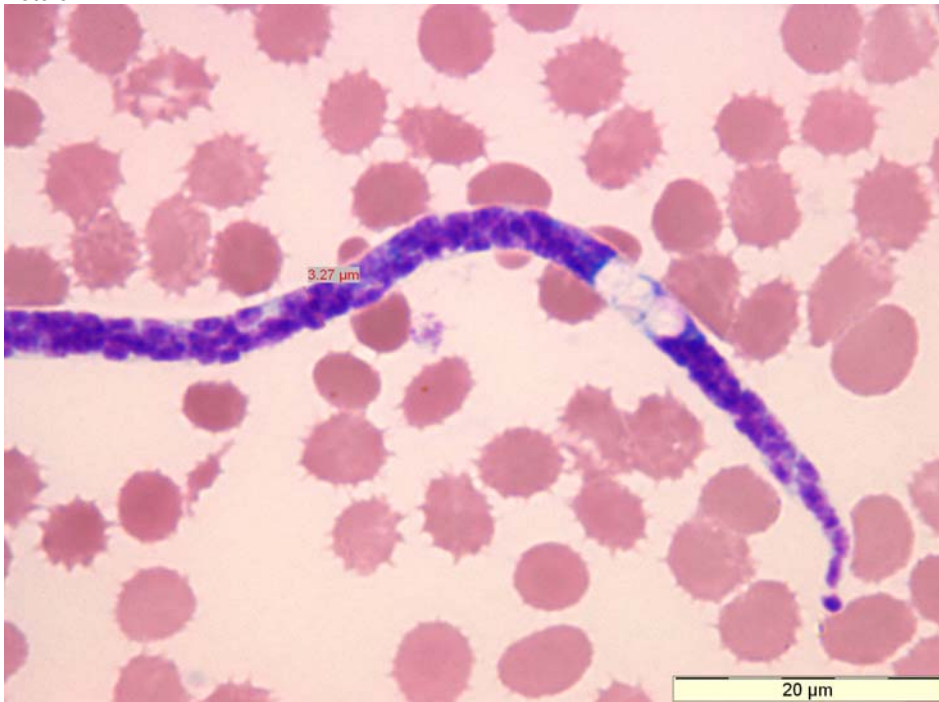


Foto 8



Foto 9



VI. Serologie

6.1. Borrelia

6.1.1 Informatie betreffende de verstuurde stalen

Er werden 2 stalen rondgestuurd voor Borrelia-serologie.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

S/4897: Een 45 jarige boswachter heeft geen bijzondere klachten. Het onderzoek maakt deel uit van een jaarlijkse check-up.

S/5379: Bloedname uitgevoerd bij een 63-jarige man met een artritis van de rechter knie.

De verwachte resultaten waren:

S/4897:	IgG negatief IgM negatief Interpretatie: Afwezigheid van antistoffen (code 01)
S/5379:	IgG negatief IgM negatief Interpretatie: Afwezigheid van antistoffen (code 01)

6.1.2. De deelnemers

138 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 247 testen uit op staal S/4897 en 246 testen op staal S/5379.

Daarnaast voerden ook drie firmalaboratoria de testen uit. Het eerste gebruikte de Borrelia Plus VLSE Elisa IgG en Anti-Borrelia Elisa (IgM) kits (Euroimmun), het tweede gebruikte de recomWell Borrelia IgG en recomWell Borrelia IgM kits (Mikrogen) en het derde de Liaison Borrelia IgG en Liaison Borrelia IgM Quant (DiaSorin). Al deze labo's bewaarden correcte resultaten voor beide stalen.

De uitgevoerde testen kunnen als volgt gegroepeerd worden :

- IgG+M (één kit die beide antistoffen tegelijkertijd bepaalt) :
 - “algemene” antistofbepaling
 - bepaling van specifiek tegen het C6 proteïne gerichte antistoffen
- IgG:
 - ELISA, EIA, IFA, ELFA, ...
 - blot bepalingen (immunoblot, dot blot, western blot)
- IgM:
 - ELISA, EIA, IFA, ELFA, ...
 - blot bepalingen (immunoblot, dot blot, western blot)

(NB In de verdere bespreking van de verwerking zijn de ELISA, EIA, IFA, ELFA,... technieken gegroepeerd onder de benaming “niet-blot” om de leesbaarheid te vergemakkelijken).

Op staal S/4897 voerden 49 laboratoria 1 test uit, 73 laboratoria voerden 2 testen uit, 14 laboratoria 3 testen, 1 laboratorium 4 testen en 1 laboratorium 6 testen.

De verdeling van deze testen is als volgt:

- IgG+M:	57
- «algemeen»:	44
- anti-C6:	13
- IgG:	92
- « niet-blot »:	86
- blot:	6
- IgM:	98
- «niet-blot»:	86
- blot:	12

Op staal S/5379 voerden 49 laboratoria 1 test uit, 74 laboratoria voerden 2 testen uit, 13 laboratoria 3 testen, 1 laboratorium 4 testen en 1 laboratorium 6 testen.

De verdeling van deze testen is als volgt:

- IgG+M:	57
- «algemeen»:	44
- anti-C6:	13
- IgG:	92
- « niet-blot »:	86
- blot:	6
- IgM:	97
- «niet-blot»:	86
- blot:	11

De verdeling van de gebruikte testen in functie van de gebruikte technieken wordt weergegeven in tabel 6.1.1.

Tabel 6.1.1. Verdeling der gebruikte testen in functie van de techniek voor bepaling van anti-Borrelia antistoffen, enquête 2011/1

Aantal testen	Aard kit	Type techniek	S/4897	S/5379
1 test	Tot. As.	algemeen	38	38
		anti-C6	11	11
2 testen	IgG en IgM	nietblot - nietblot	72	73
		blot – blot	1	1
3 testen	Tot. As. en IgG en IgM	algemeen – nietblot – nietblot	4	4
		algemeen – blot – blot	2	2
		antiC6 – nietblot – nietblot	1	1
		antiC6 – blot – blot	1	1
	IgG en 2 x IgM	nietblot – nietblot – blot	6	5
4 testen	2 x IgG en 2 x IgM	nietblot – blot – nietblot – blot	1	1
6 testen	3 x IgG en 3 x IgM	nietblot – nietblot – blot – nietblot– nietblot – blot	1	1

6.1.3. Gebruikte reagentia

6.1.3.1. Voor de totale As (alle methoden samen)

Tabel 6.1.2.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van Borrelia totale antistoffen.

Fabrikant	Kit	S/4897	S5379
bioMérieux	VIDAS Lyme IgG+IgM	44	44
Immunitics (verdelers Lucron)	C6 B. burgdorferi (Lyme) ELISA	13	13
Totaal		57	57

6.1.3.2. Voor IgG (alle methoden samen)

Tabel 6.1.3.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van Borrelia IgG.

Fabrikant	Kit	S/4897	S5379
Diasorin	Liaison Borrelia IgG	50	50
Euroimmun (verdelers Biognost)	Borrelia Plus VLsE Elisa IgG	20	20
	anti-Borrelia Euroline RN-AT IgG	3	3
	WB B. burgdorferi IgG	2	2
Medac Diagnostica	Borrelia IgG Elisa	1	1
Mikrogen (verdelers Euribel)	recomWell Borrelia IgG	1	1
	recomLine Borrelia IgG	1	1
Novatec (verdelers BMD)	Novalisa Lyme Borrelia IgG EIA	3	3
Serion (verdelers Labconsult)	Borrelia burgdorferi classic ELISA IgG	1	1
Siemens	Enzygnost Lyme link VLsE IgG	9	9
Viro-Immun (verdelers Biotest)	Vir-Elisa anti-Borrelia IgG	1	1
Totaal		92	92

6.1.3.3. Voor IgM (alle methoden samen)

Tabel 6.1.4.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van Borrelia IgM.

Fabrikant	Kit	S/4897	S5379
Diasorin	Liaison Borrelia IgM II	46	46
	Liaison Borrelia IgM Quant	4	4
Euroimmun (verdelers Biognost)	Anti-Borrelia Elisa (IgM)	20	20
	anti-Borrelia Euroline RN-AT IgM	7	6
	WB B. burgdorferi IgM	2	2
	Euroline WB Borrelia IgM	1	1
Medac Diagnostica	Borrelia IgM Elisa	1	1
Mikrogen (verdelers Euribel)	recomLine Borrelia IgM	2	2
	recomWell Borrelia IgM	1	1
Novatec (verdelers BMD)	Novalisa Lyme Borrelia IgM EIA	3	3
Serion (verdelers Labconsult)	Borrelia burgdorferi classic ELISA IgM	1	1
Siemens	Enzygnost Borreliosis IgM	9	9
Viro-Immun (verdelers Biotest)	Vir-Elisa anti-Borrelia IgM	1	1
Totaal		98	97

6.1.4. Resultaten

6.1.4.1. Staal S/4897

6.1.4.1.1. IgG+M

Algemeen

Alle laboratoria die de “algemene” totale antistoffen bepaalden bekwamen een negatief resultaat voor staal S/4897.

Anti-C6

Alle laboratoria die deze test uitvoerden bekwamen een negatief resultaat voor staal S/4897.

6.1.4.1.2. IgG

Niet blot bepalingen

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat (het laboratorium dat deze test met 2 verschillende technieken uitvoerde bekwam met beide een negatief resultaat).

Blot bepalingen

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat.

6.1.4.1.3. IgM

Niet blot bepalingen

Een overzicht van de resultaten per laboratorium wordt getoond in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.5. Resultaten voor anti-Borrelia IgM voor staal S/4897

Resultaat	Aantal laboratoria
Negatief ¹	70
Borderline	4
Positief	11
Totaal	85

¹ Het laboratorium dat deze test met 2 verschillende technieken uitvoerde bekwam met beide een negatief resultaat.

Alle niet-negatieve resultaten werden bekomen met de kit Anti-Borrelia Elisa (IgM) (Euroimmun).

Blot bepalingen

Tien laboratoria bekwamen een negatief resultaat; twee een positief resultaat (in beide gevallen met de kit anti-Borrelia Euroline RN-AT IgM (Euroimmun)).

6.1.4.1.4. Interpretatie

Eigenlijke interpretatie

Een overzicht van de interpretaties wordt weergegeven in tabel 6.1.6.

Tabel 6.1.6. Interpretaties voor staal S/4897

Interpretatie	Aantal laboratoria
Afwezigheid van Borrelia antistoffen (code 001)	128
Aanwezigheid van Borrelia antistoffen (code 002)	6
Aanwezigheid van Borrelia antistoffen. Het serologisch resultaat ondersteunt de diagnose van Lyme borreliosis niet indien de klachten al meer dan 6 weken aanwezig zijn. (code 003)	2
IgM aan de grens van de positiviteit	1
Twijfelachtige Borrelia IgM. Bevestiging is nodig!	1
Totaal	138

Opmerkingen voor code 001

Een overzicht van de opmerkingen gemaakt bij het antwoord "Afwezigheid van Borrelia antistoffen" (code 001) wordt weergegeven in tabel 6.1.7.

Tabel 6.1.7. Opmerkingen bij het antwoord "Afwezigheid van antistoffen" voor staal S/4897

Opmerking	Aantal laboratoria
Een bevestiging door middel van Western Blot is niet noodzakelijk	73
Het laboratorium heeft zelf reeds een Western Blot uitgevoerd	6
Een bevestiging door middel van Western Blot is noodzakelijk	1
Controle aangewezen na 2 tot 3 weken indien tekenbeet	1
Controle van Borrelia-serologie niet nodig binnen 2 tot 3 weken	1
Een bevestiging IgG en IgM Borrelia indien positief: → Western Blot indien de aanvragende arts dit wenst (denkt aan vals positiviteit)	1
Totaal	83

Overzicht van de individuele labo's met afwijkende resultaten en/of interpretaties

IgG niet blot negatief, IgM niet blot **positief**, interpretatie **code 2**:

4 labo's

IgG niet blot negatief, IgM niet blot **positief**, IgM blot negatief, interpretatie **code 2**:

1 labo

IgG niet blot negatief, IgM niet blot **positief**, IgM blot negatief, interpretatie **code 3**:

1 labo

IgG niet blot negatief, IgM niet blot **positief**, IgM blot negatief, interpretatie code 1:

2 labo's

IgG+M algemeen negatief, IgG niet blot negatief, IgM niet blot **positief**, interpretatie **code 2**:

1 labo

IgG+M algemeen negatief, IgG niet blot negatief, IgM niet blot **positief**, interpretatie **"Twijfelachtige Borrelia IgM. Bevestiging is nodig!"**:

1 labo

IgG niet blot en blot negatief, IgM niet blot **positief**, IgM blot negatief, interpretatie code 1:

1 labo

IgG niet blot negatief, IgM niet blot **borderline**, interpretatie **"IgM aan de grens van de positiviteit"**:

1 labo

IgG niet blot negatief, IgM niet blot **borderline**, IgM blot negatief, interpretatie code 1:

2 labo's

IgG+M algemeen negatief, IgG niet blot negatief, IgM niet blot **borderline**, interpretatie code 1:

1 labo

IgG blot negatief, IgM blot **positief**, interpretatie **code 3**:

1 labo

6.1.4.2. Staal S/5379

6.1.4.2.1. IgG+M

Algemeen

Alle laboratoria die de "algemene" totale antistoffen bepaalden bewamen een negatief resultaat voor staal S/5379.

Anti-C6

Alle laboratoria die deze test uitvoerden bewamen een negatief resultaat voor staal S/5379.

6.1.4.2.2. IgG

Niet blot bepalingen

84 laboratoria bekwamen een negatief resultaat (het laboratorium dat deze test met 2 verschillende technieken uitvoerde bekwam met beide een negatief resultaat).
Eén laboratorium bekwam een borderline resultaat.

Blot bepalingen

Drie laboratoria bekwamen een negatief resultaat, twee een borderline en één een positief.

6.1.4.2.3. IgM

Niet blot bepalingen

Een overzicht van de resultaten per laboratorium wordt getoond in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.8. Resultaten voor anti-Borrelia IgM voor staal S/5379

Resultaat	Aantal laboratoria
Negatief ¹	72
Borderline	9
Positief	4
Totaal	85

¹ Het laboratorium dat deze test met 2 verschillende technieken uitvoerde bekwam met beide een negatief resultaat.

Alle niet-negatieve resultaten werden bekomen met de kit Anti-Borrelia Elisa (IgM) (Euroimmun).

Blot bepalingen

Acht laboratoria bekwamen een negatief resultaat, twee een borderline en één een positief.

Opmerking: aan gezien alle niet-negatieve resultaten voor beide stalen bekomen werden met de kits van de firma Euroimmun, werd deze firma gecontacteerd met de vraag de deze stalen te analyseren.

Hieronder vindt u de resultaten van hun onderzoek:

Herewith EUROIMMUN would like to comment on the results of the recent External Belgian Quality Control for serological Borrelia tests. Two sera were sent to the participants:

S/4897: 45 year old male forest guard with no complaints

S/5379: 63 year old male with arthritis complaints

The target values that have been assigned to these sera were negative for both. As reported by our Belgian distributor (BIOGNOST), a significant number (75% and 65%, respectively) of participants using the EUROIMMUN Anti-Borrelia ELISA (IgM) achieved a borderline or a positive result. These results could be confirmed at EUROIMMUN when we retested the above mentioned sera.

The German Society for Hygiene and Microbiology, the Robert Koch Institute and the Centers for Disease Control and Prevention (USA) recommend a two-tiered procedure for the serodiagnosis of Borrelia infections. In the first diagnostic step a screening test (ELISA or IIFT) is performed. It is crucial that the screening test shows a high sensitivity to avoid the risk of not detecting a true Borrelia infection. If the screening test result is positive or borderline, it should be followed up by a specific confirmatory test. The immunoblot is the method of choice because it allows a reliable differentiation between antibodies against individual specific and unspecific antigens.

To meet the demands of a sensitive screening assay, the EUROIMMUN Anti-Borrelia ELISA (IgM) is composed of whole antigen (SDS extracts) of the most relevant pathogenic strains: Borrelia burgdorferi sensu stricto, Borrelia garinii, and Borrelia afzelii. We think that only by using such a broad antigenic spectrum it can be assured that all kind of anti-Borrelia antibodies are captured from the serum. A few of the lysate antigens (e.g. p41/Flagellin) included in this ELISA have been described to react unspecifically. These reactions can be reliably identified by the confirmatory test (e.g. Anti-Borrelia EUROLINE-RN-AT). It is worth mentioning that the screening test is deliberately designed to be slightly more sensitive than the confirmatory test because it is essential that all blot-reactive sera are also recognized by the ELISA. Thus, in some instances a positive or borderline ELISA result will not be confirmed by immunoblot analysis. However, such results are in agreement with the recommended two-tiered serological strategy for diagnosis of Borrelia infections.

Internal studies by EUROIMMUN show a 100% agreement of both techniques (ELISA, Blot) with regard to the recommended two-tiered serological strategy for diagnosis of Borreliosis. In addition, the good quality of the Anti-Borrelia ELISA (IgM) is regularly proven by internal and external quality assessment schemes. Nevertheless, we constantly strive to improve existing test systems by optimizing the antigenic composition. I would like to inform you that the reported results from Belgium have already led us to explore possibilities to further enhance the performance of our Anti-Borrelia ELISA (IgM) by using exclusively specific target antigens.

6.1.4.2.4. Interpretatie

Eigenlijke interpretatie

Een overzicht van de interpretaties wordt weergegeven in tabel 6.1.9.

Tabel 6.1.9. Interpretaties voor staal S/5379

Interpretatie	Aantal laboratoria
Afwezigheid van Borrelia antistoffen (code 001)	128
Aanwezigheid van Borrelia antistoffen (code 002)	4
Aanwezigheid van Borrelia antistoffen. Het serologisch resultaat ondersteunt de diagnose van Lyme borreliosis niet indien de klachten al meer dan 6 weken aanwezig zijn. (code 003)	2
Afwezigheid van Borrelia antistoffen. Een controlestaal is aangewezen binnen 3-4 weken.	1
Twijfelachtige Borrelia IgM. Bevestiging is nodig!	1
Resultaat WB afwachten	1
Borderline resultaten voor ELISA en blot (controle absoluut noodzakelijk binnen enkele weken)	1
Totaal	138

Opmerkingen bij code 002

Een overzicht van de opmerkingen gemaakt bij het antwoord "Afwezigheid van Borrelia antistoffen" (code 001) wordt weergegeven in tabel 6.1.10.

Tabel 6.1.10. Opmerkingen bij het antwoord "Afwezigheid van antistoffen" voor staal S/5379

Opmerking	Aantal laboratoria
Een bevestiging door middel van Western Blot is niet noodzakelijk	71
Het laboratorium heeft zelf reeds een Western Blot uitgevoerd	5
Een bevestiging door middel van Western Blot is noodzakelijk ¹	2
Een bevestiging IgG en IgM Borrelia indien positief: → Western Blot indien de aanvragende arts dit wenst (denkt aan vals positiviteit)	1
Controle binnen 2 à 3 weken	1
Controle binnen 2 à 3 weken zou nuttig kunnen zijn gezien de kliniek	1
Controle binnen 3 à 4 weken	1
In een zeer vroeg stadium kan de serologie negatief zijn. Bij verdachte kliniek is het aanbevolen de serologie na enkele weken te herhalen.	1
Totaal	83

¹ Eén van deze beide laboratoria vermeldt dat Western Blot aangewezen is gezien de mono-artritis. De anamnese is eveneens belangrijk.

Overzicht van de individuele labo's met afwijkende resultaten en/of interpretaties

IgG niet blot **borderline**, IgM niet blot **borderline**, IgM blot **borderline**, interpretatie "**Borderline resultaten voor ELISA en blot (controle absoluut noodzakelijk binnen enkele weken)**":

1 labo

IgG+M algemeen negatief, IgG blot **positief**, IgM blot **borderline**, interpretatie **code 2**:

1 labo

IgG+M algemeen negatief, IgG blot **borderline**, IgM blot negatief, interpretatie code 1:

2 labo's

IgG niet blot negatief, IgM niet blot **positief**, interpretatie **code 2**:

2 labo's

IgG+M algemeen negatief, IgG niet blot negatief, IgM niet blot **positief**, interpretatie **code 2**:

1 labo

IgG niet blot negatief, IgM niet blot **positief**, IgM blot negatief, interpretatie code 1:

1 labo

IgG niet blot negatief, IgM niet blot **borderline**, interpretatie **code 3**:

1 labo

IgG niet blot negatief, IgM niet blot **borderline**, interpretatie "**Resultaat WB afwachten**":

1 labo

IgG+M algemeen negatief, IgG niet blot negatief, IgM niet blot **borderline**, interpretatie code 1:

1 labo

IgG+M algemeen negatief, IgG niet blot negatief, IgM niet blot **borderline**, interpretatie "**Twijfelachtige Borrelia IgM. Bevestiging is nodig!**":

1 labo

IgG niet blot negatief, IgM niet blot **borderline**, IgM blot negatief, interpretatie code 1:

2 labo's

IgG niet blot negatief, IgM niet blot **borderline**, IgM blot negatief, interpretatie "**Afwezigheid van Borrelia antistoffen. Een controlestaal is aangewezen binnen 3-4 weken.**":

1 labo

IgG niet blot en blot negatief, IgM niet blot **borderline**, IgM blot negatief, interpretatie code 1:

1 labo

IgG blot negatief, IgM blot **positief**, interpretatie **code 3**:

1 labo

6.1.5. Commentaar op de enquête

Staal S/4897 werd verstuurd met volgende klinische inlichtingen: Een 45 jarige boswachter heeft geen bijzondere klachten. Het onderzoek maakt deel uit van een jaarlijkse check-up.

De seroprevalentie van *Borrelia* spp is verhoogd bij mensen die beroepshalve blootgesteld zijn aan tekenbeten en desalniettemin in goede gezondheid zijn, zoals boomhakkers en boswachters: 15 % op het Ile-de-France, 26 % in de Elzas, 24 % in Slovenië en tot 32 % in sommige regio's in Polen. Screening voor anti-*Borrelia* antistoffen bij deze populaties heeft zijn belang in het kader van epidemiologische studies maar niet in het opstellen van het gezondheidsbilan, behalve indien klinische symptomen aanwezig zijn.

Resultaten: De bepaling van de IgG en van de totale antistoffen stelde geen probleem. Van de 20 gebruikers van de EuroImmun Borrelia Plus VisE ELISA IgM daarentegen, bekwamen er 15 een vals positief (11) of borderline (4) resultaat.

De firma EuroImmun, die hierover gecontacteerd werd, antwoordde dat hun test zeer gevoelig is en dat elk positief of borderline resultaat met een immunoblot bevestigd dient te worden.

De ELISA-testen van EuroImmun bevatten de natieve antigenen van de 3 belangrijkste *Borrelia* species, wat hun waarschijnlijk heel gevoelig maakt, maar eveneens minder specifiek omwille van de aanwezigheid van het proteïne p41, het flagellaire antigeen dat gemeenschappelijk is voor alle spirocheten. De minder goede specificiteit van deze testen leidt dus tot het uitvoeren van onnodige en dure immunoblots. Een alternatief voor de gebruikers van deze kits zou kunnen zijn om 2 à 3 weken later een controlestaal te vragen in plaats van onmiddellijk een immunoblot uit te voeren.

Interpretatie: De meeste laboratoria hebben de correcte interpretatie « afwezigheid van anti-*Borrelia* antistoffen» geantwoord.

Vier laboratoria hebben de interpretatie « Aanwezigheid van *Borrelia* antistoffen» geantwoord enkel op basis van een positieve ELISA IgM test. De specificiteit van de anti-*Borrelia* IgM is zeer variabel naargelang de kits en kan dalen tot 52 % bij patiënten met een virale infectie of rheumafactor. Het is dus belangrijk de aanwezigheid van de IgM te bevestigen met een immunoblot of nog beter, het verschijnen van de IgG op een controleserum 2 of 3 weken later te controleren.

Inderdaad, zelfs de IgM immunoblots vertonen onderling een slechte concordantie, waarbij sommigen specificiteit missen.

Twee laboratoria hebben « Aanwezigheid van *Borrelia* antistoffen» geantwoord, hoewel ze een Western Blot uitgevoerd hebben en deze negatief was

Staal S/5379 werd verstuurd met volgende klinische inlichtingen: Bloedafname uitgevoerd bij een 63-jarige man met een artritis van de rechter knie.

In geval van Lyme disease, presenteren de artritiden zich onder vorm van een mono-artritis die de grote gewrichten treft, wat dus overeenkomt met de klachten van deze patiënt.

Resultaten : net zoals voor het vorige staal, stelde de bepaling van de IgG en de totale antistoffen geen problemen ; voor de IgM bekwamen 13 laboratoria echter een positief of borderline resultaat. De problemen stelden zich bij dezelfde kit als voor het vorige staal.

Interpretatie: De meeste laboratoria hebben de correcte interpretatie « afwezigheid van anti-Borrelia antistoffen» geantwoord. Drie laboratoria hebben de interpretatie « Aanwezigheid van Borrelia antistoffen» geantwoord enkel op basis van een positieve ELISA IgM test. Zoals reeds hoger vermeld, vereist de matige specificiteit van deze testen een bevestiging via western blot en/of het aantonen van de IgG op een tweede staal 2 of 3 weken later.

In geval van Lyme arthritis, zijn de IgG positief en meestal zeer hoog. In geval van onze patiënt sluit de afwezigheid van de IgG deze diagnose dus uit en is een latere controle niet nodig.

Tot besluit: de diagnose van borreliose blijft moeilijk, omwille van de grote variabiliteit in de performantie van de beschikbare serologische testen en de geringe gevoeligheid van de rechtstreekse detectie van de pathogeen. De klassieke aanbevelingen bestaan erin een screeningstest uit te voeren van de IgG en IgM of totale antistoffen met een immunoassay, gevolgd door een immunoblot in geval van positiviteit. De bevestiging door immunoblot is niet altijd noodzakelijk indien er een sterk vermoeden van borreliose is. In geval van erythema migrans, pathognomonische manifestatie, gebeurt de diagnose klinisch en is serologie niet noodzakelijk.

De resultaten van de Borrelia serologie moeten altijd geïnterpreteerd worden in functie van de klinische inlichtingen. De aanwezigheid van specifieke antistoffen bewijst de aanwezigheid van de ziekte niet maar kan te wijten zijn aan een oud contact, dat al dan niet symptomatisch was. Gezien de geringe gevoeligheid in de eerste weken, is het belangrijk een follow-up staal af te nemen indien de serologie negatief of twijfelachtig is, maar enkel in geval van vermoeden van een recente infectie.

Dr ML Delforge, ULB/Erasmus, Bruxelles

Referenties

1. EUCALB-European Concerted Action on Lyme-Diagnosis : Borreliosis <http://meduni09.edis.at/eucalb/cms/index.php?lang=en>.
2. ME Aguero-Rosefeld. Lyme Disease : Laboratory Issues. Infect Dis Clin North Am 22 (2008) 301-313.
3. CW Ang et al. Large differences between test strategies for the detection of anti-*Borrelia* antibodies are revealed by comparing eight ELISAs and five immunoblots. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2011 Published online Jan 27.
4. B Wilske et al. Microbiological and serological diagnosis of Lyme borreliosis. FEMS Immunol Med Microbiol 49 (2007) 13-21.
5. A. Smismans et al. Comparison of five different immunoassays for the detection of *Borrelia burgdorferi* IgM et IgG antibodies. Clin Microbiol Infect. 2006 Jul;12(7):648-55.

6.2. CMV

6.2.1. Informatie betreffende de verstuurde stalen

Er werden 2 stalen rondgestuurd het uitvoeren van de CMV-serologie.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

S/4173: Een vrouw op vruchtbare leeftijd raadpleegt haar arts voor een griepaal syndroom met koorts, spierpijnen en algemeen gevoel van onwelzijn. Het staal werd afgenomen één maand na de start van de klinische symptomen.

S/4898: Eén week nadien raadpleegt de echtgenoot van de boven vermelde patiënte zijn huisarts met dezelfde klachten

De verwachte resultaten waren :

S/4173: IgG negatief
IgM negatief
Interpretatie: Negatieve CMV serologie (code 04)

S/4898: IgG positief
IgM negatief
Interpretatie: Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte CMV infectie (code 03)

6.2.2. De deelnemers

168 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 337 testen uit op staal S/4173 en 359 testen op staal S/4898.

Daarnaast voerden ook drie firmalaboratoria de testen uit met correcte resultaten in alle gevallen. Ze gebruikten volgende kits (de aviditeitstesten werden enkel op staal S/4898 uitgevoerd):

- recomBlot CMV IgG, recomBlot CMV IgM en recomBlot CMV IgG avidity (Mikrogen, verdeler Euribel)
- Liaison CMV IgG, Liaison CMV IgM en Liaison CMV IgG avidity (DiaSorin)
- Immulite CMV IgG en Immulite CMV IgM (Siemens)

De testen uitgevoerd op staal S/4173 waren als volgt verdeeld: 1 bepaling van de totale antistoffen, 168 IgG, 167 IgM en 1 aviditeitsbepaling. De testen uitgevoerd op staal S/4898: 1 bepaling van de totale antistoffen, 169 IgG, 169 IgM en 20 aviditeitsbepalingen.

Een overzicht van het aantal en type bepalingen per laboratorium wordt in tabel 6.2.1 weergegeven.

Tabel 6.2.1. Aantal deelnemers verdeeld per uitgevoerde parameters voor CMV (EKE 2011/1)

Aantal testen		Type test	S/4173	S/4898
1 test	IgG		3	3
2 testen	IgG + IgM		160	141
	IgG + totale AS		1	1
3 testen	IgG + IgM + aviditeit		1	17
	IgG + IgM + IgM		3	3
4 testen	IgG + IgM + IgM + aviditeit		-	2
	IgG + IgG + IgM + aviditeit		-	1
Totaal			168	168

6.2.3. Gebruikte reagentia

Voor de bepaling van de totale antistoffen

Het laboratorium dat deze test uitvoerde gebruikte hiervoor de kit Enzywell CMV Screen (Diesse, verdeler International Medical).

Voor de bepaling van de IgG

Tabel 6.2.2.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-CMV IgG

Fabrikant	Kit	S/4173	S/4898
Abbott	Architect CMV IgG	38	38
	AxSYM CMV IgG	25	25
Beckman (verdeler Analis)	Unicel DxI CMV IgG	6	6
	Access CMV IgG	1	1
bioMérieux	VIDAS CMV IgG	27	28
Diasorin	Liaison CMV IgG	34	34
	ETI-CYTOK-G Plus	2	2
Diesse (verdeler International Medical)	Chorus CMV IgG	1	1
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros Immunodiagnosics Products CMV IgG	4	4
Roche	Modular CMV IgG	6	6
Siemens	Cobas CMV IgG	6	6
	Elecsys CMV IgG	1	1
	Immulite CMV IgG	13	13
	Enzygnost anti CMV IgG	4	4
Totaal		168	169

Voor de bepaling van de IgM

Tabel 6.2.3.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-CMV IgM G

Fabrikant	Kit	S/4173	S/4898
Abbott	Architect CMV IgM	36	36
	AxSYM CMV IgM	18	18
Beckman (verdelers Analis)	Unicel Dxl CMV IgM	6	6
	Access CMV IgM	1	1
bioMérieux	VIDAS CMV IgM	32	33
	VIDIA CMV IgM	1	2
Diasorin	Liaison CMV IgM	35	35
	ETI-CYTOK-M reverse Plus	3	3
Diesse (verdelers International Medical)	Chorus CMV IgM	1	1
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros Immunodiagnosics Products CMV IgM	4	4
Roche	Modular CMV IgM	6	6
	Cobas CMV IgM	5	5
	Elecsys CMV IgM	1	1
Siemens	Immulite CMV IgM	14	14
	Enzygnost anti CMV IgM	4	4
Totaal		167	169

Voor de bepaling van de aviditeit

Tabel 6.2.4.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van CMV IgG aviditeit

Fabrikant	Kit	S/4173	S/4898
Abbott	Architect CMV IgG avidity	-	1
bioMérieux	VIDAS CMV IgG avidity	1	15
Diasorin	Liaison CMV IgG avidity	-	4
Totaal		1	20

6.2.4. Resultaten

6.2.4.1 Staal S/4173

Totale antistoffen

Het laboratorium dat deze test uitvoerde, bewam een negatief resultaat.

IgG

166 laboratoria bewamen een negatief resultaat. Twee laboratoria hebben een positief resultaat geantwoord: één van beide heeft wellicht beide stalen omgewisseld («negatief» resultaat voor S/4898); het andere heeft wellicht het verkeerde vakje aangekruist (kwantitatief resultaat wijst op een negatief resultaat en interpretatie is “negatieve serologie”).

IgM

Alle laboratoria bewamen een negatief resultaat (de laboratoria die deze test met 2 verschillende technieken uitvoerden, bewamen met beide een negatief resultaat).

Aviditeit

Het laboratorium dat deze test uitvoerde, bewam een intermediair resultaat, maar vermeldde wel dat deze test in routine niet zou uitgevoerd en/of doorgegeven worden.

Interpretaties

Een overzicht van de interpretaties wordt weergegeven in tabel 6.2.5.

Tabel 6.2.5. Interpretaties voor staal S/4173

Interpretatie	Aantal laboratoria
Negatieve CMV serologie (code 004)	164
Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte CMV infectie (code 003) ¹	1
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie (code 001) ²	1
IgG negatief ³	1
Geen antwoord ⁴	1
Totaal	168

¹ Interpretatie gegeven door het labo dat wellicht beide stalen verwisseld heeft (en dus een positief resultaat bewam voor de IgG).

² Interpretatie gegeven door een labo dat negatieve resultaten bewam voor IgG en IgM.

³ Interpretatie gegeven door een labo dat enkel IgG bepaalde.

⁴ Het labo dat de totale As en de IgG bepaalde, liet de interpretatie open.

6.2.4.2 Staal S/4898

Totale antistoffen

Het laboratorium dat deze test uitvoerde, bewam een positief resultaat.

IgG

165 laboratoria bewamen een positief resultaat (het laboratorium dat deze test met 2 verschillende technieken uitvoerde, bewam met beide een positief resultaat). Eén laboratorium bewam een borderline resultaat. Twee laboratoria hebben een negatief resultaat geantwoord: één van beide heeft wellicht beide stalen omgewisseld (cfr. supra); het andere heeft wellicht het bij het invullen IgG en IgM omgewisseld (IgM is “positief” maar de interpretatie “vroeger doorgemaakte infectie”).

Voor de meest gebruikte kits, hebben we, voor zover de laboratoria het kwantitatief resultaat geantwoord hebben, de mediaan, minimum en maximum berekend (als de laboratoria dezelfde eenheid gebruikt hebben). Deze resultaten worden weergegeven in tabel 6.2.6.

Tabel 6.2.6. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor anti-CMV IgG voor staal S/4898 voor de meest gebruikte kits

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off
Architect CMV IgG (AU/mL)	37	134.0	71.0	153.6	6
AxSYM CMV IgG (AU/mL) ¹	24	193.3	67.9	248.0	15
VIDAS CMV IgG (AU/mL)	27	60	34	70	6
Liaison CMV IgG (IU/ml) ²	32	4.25	1.6	6.1	0.6
Immulite CMV IgG (index) ³	13	8.19	4.9	9.42	1.1

¹ Tevens antwoordde 1 laboratorium > 250 AU/mL.

² Twee laboratoria gaven volledig afwijkende kwantitatieve resultaten en hebben wellicht andere eenheden gebruikt.

³ Het laboratorium dat de IgG als borderline interpreteerde, bewam een index van 8.22.

IgM

Een overzicht van de resultaten wordt getoond in onderstaande tabel.

Tabel 6.2.7. Resultaten bekomen voor CMV IgM voor staal S/4898.

Resultaat	Aantal laboratoria
Negatief	159
Negatief/borderline ¹	1
Negatief/positief ¹	1
Borderline	1
Positief ²	2
Totaal	164

¹ Twee laboratoria bekwamen verschillende resultaten met de 2 gebruikte kits; de overige drie laboratoria die 2 kits gebruikt hebben, bekwamen twee maal een negatief resultaat. De beide labo's met verschillende resultaten hebben wel de interpretatie "vroeger doorgemaakte infectie" gegeven.

² Eén van deze beide laboratoria is het hoger vermeldde laboratorium dat wellicht IgG en IgM verwisseld heeft bij het invullen

De beide "echt" positieve resultaten en de beide borderline resultaten werden allen bekomen met de kit AxSYM CMV IgM (met respectievelijke indexen van 0.514 en 0.563 voor de positieve resultaten en 0.443 en 0.455 voor de borderline). De overige 14 gebruikers van deze kit bekwamen een negatief resultaat (13 gaven de index weer: mediaan 0.260, minimum 0.110 en maximum 0.400). De firma Abbott werd hieromtrent gecontacteerd en onderzoek momenteel het staal. Zodra de resultaten van hun onderzoek gekend zijn, zullen wij u deze meedelen.

Aviditeit

17 laboratoria bekwamen een hoge aviditeit, één laboratorium antwoordde "intermediair" (kwantitatief resultaat: 68.7%) en 2 laboratoria antwoordden "laag" (kwantitatieve resultaten respectievelijk: 28% en 75.5%).

Voor de meest gebruikte kit (VIDAS), hebben we, voor zover de laboratoria het kwantitatief resultaat geantwoord hebben, de mediaan, minimum en maximum berekend. Dit resultaat wordt weergegeven in tabel 6.2.8. Voor vereenvoudiging van de berekening werden de resultaten naar % omgerekend.

Tabel 6.2.8. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor CMV IgG aviditeit voor staal S/4898 voor de VIDAS

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
VIDAS CMV IgG avidity (%)	14	84.0	68.7	90.5

Interpretaties

Een overzicht van de interpretaties wordt weergegeven in tabel 6.2.9.

Tabel 6.2.9. Interpretaties voor staal S/4898

Interpretatie	Aantal laboratoria
Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte CMV infectie (code 003)	162
Negatieve CMV serologie (code 004) ¹	1
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie (code 001) ²	1
Positieve reactie in de IgM assay voor CMV; om een primaire CMV-infectie uit te sluiten is een bevestiging nodig door controle met een andere methode en een opvolgingsstaal voor de IgG. Hoge aviditeit wijst in de richting van een andere infectie ³	1
Een nieuwe staalname is aangewezen na drie weken ⁴	1
IgG negatief ⁵	1
Geen antwoord ⁶	1
Totaal	168

¹ Interpretatie gegeven door het labo dat wellicht beide stalen verwisseld heeft (en dus een negatief resultaat bekam voor de IgG).

² Interpretatie gegeven door een labo dat een positief resultaat bekam voor IgG, een negatief voor IgM en een lage aviditeit.

³ Interpretatie gegeven door een labo dat positieve resultaten bekam voor IgG en IgM en een hoge aviditeit.

⁴ Interpretatie gegeven door een labo dat een positief resultaat bekam voor IgG en een borderline voor IgM

⁵ Interpretatie gegeven door een labo dat enkel IgG bepaalde.

⁶ Het labo dat de totale As en de IgG bepaalde, liet de interpretatie open

6.2.5. Commentaar op de enquête

De diagnose van cytomegalovirus infectie in immuuncompetente patiënten in het algemeen, en in zwangeren in het bijzonder, gebeurt serologisch. Ze is voornamelijk gebaseerd op een geobjectiveerde seroconversie of op een significante toename in titer van geassocieerde IgG-antilichamen. Hoedanook is het in geval van aanwezigheid van maar één geïsoleerd serumstaal, of in geval van IgG titers die een plateau fase bereiken, onmogelijk om, in concomitante aanwezigheid van IgM, de infectie trachten te dateren of om primaire infectie te onderscheiden van reactivatie, reinfectie of polyclonale stimulatie louter aan de hand van IgG en IgM analyses. Deze informatie is nochtans onontbeerlijk voor accurate prenatale diagnostiek, waar men streeft naar kennis betreffende CMV primo-infectie. De anti-CMV IgG aviditeitstest is actueel de meest betrouwbare serologische procedure om primo-infectie uit te sluiten (in geval van hoge aviditeit). Een lage aviditeitsindex kan vroeger doorgemaakte infectie niet uitsluiten, gezien er een proportie geïnfecteerde patiënten is die gedurende lange tijd persisterende lage aviditeits- IgG antilichamen vertonen. Dit is te wijten aan de uitgesproken interindividuele variatie wat betreft maturatie van IgG-antilichamen in de loop van de tijd na primaire infectie. Het percentage personen in de algemene bevolking met hoge CMV IgG aviditeitsantistoffen is daarenboven afhankelijk van de specifieke gebruikte laboratoriumtest en de eraan geassocieerde gehanteerde cut-off.

Aviditeitsmetingen zijn gebaseerd op de toevoeging van een dissociërend agens (zoals ureum) dat Ag-Ab banden verbreekt tijdens een EIA-test of van een blokkerend agens (zoals een CMV virus lysaat) dat interfereert met de Ag-Ag binding tijdens een CMIA-test (chemiluminescente microparticle immunoassay). De gebruikte agentia hebben een beperkt effect op de hoge-aviditeit antilichaambindingen, maar een uitgesproken effect op de bindingen van antilichamen met zwakke aviditeit die geproduceerd werden in een vroeg stadium van primo-infectie. De meting berust dus op de vergelijking van de resultaten bekomen met en zonder dit toegevoegd interfererend agens.

S/4173

De gerapporteerde bevindingen voor anti-CMV IgG- en IgM-bepaling waren geruststellend. Voor de twee geantwoorde "vals-positieve" IgG resultaten is er een geldige uitleg aanwezig. Maar één labo voerde ondanks totale afwezigheid van antistoffen toch een aviditeitsmeting uit voor IgG ! Naast het feit dat dit irrelevant is, kan het ook nog verwarring scheppen. Het resultaat wees op een intermediaire aviditeit ! Het is zo dat je steeds consequent eerst een IgG meting dient uit te voeren vooraleer tot aviditeitsmeting over te gaan. De firma's met een beschikbare IgG-aviditeitstest in hun gamma (Abbott, bioMérieux, Diasorin) verwittigen in hun bijsluiter zelf dat uitsluitend sera met een IgG-waarde die boven de cut-off van positiviteit liggen, mogen getest worden. Zoniet (wanneer sera met lagere concentratie of afwezige IgG antilichamen geanalyseerd worden), kan dit aanleiding geven tot misclassificatie van het monster, en secundair foute info naar patiënt toe.

Naar interpretatie van dit staal toe, was in 165 van de 168 gevallen het antwoord correct, in 1 geval ontbrak de interpretatie. De twee overige interpretaties betroffen twee verschillende situaties. In het labo met staalverwisseling kwamen de resultaten niet overeen met de verwachte resultaten van dit serum, maar hun respectievelijke interpretatie correleerde wel juist met hun gevonden en ingevulde resultaat. De resterende interpretatie ("Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie") bij het bekomen van negatieve resultaten voor beide antilichamen, is onjuist ! Eén maand na de start van klinische symptomen, verwacht je in immuuncompetente individuen toch wel de gevolgen van een humorale immuunrespons terug te vinden in serum volgens normale fysiologische kinetiek. Daarenboven kan je bij totaal negatieve serologie nooit

een recente infectie suggereren. Wel kan je op het rapport (bij onzekerheid omtrent begin van symptomen in verhouding tot moment van staalname) vermelden, dat bij hoog klinisch vermoeden en mogelijk te kort tijdsinterval tussen begin kliniek en afname serumstaal, een controlestaal aangewezen is.

S/4898

Voor de IgG bepaling zijn er weinig problemen op te merken. Het labo dat borderline antwoordde voor IgG, bekwam een duidelijk positieve index, maar heeft deze fout geïnterpreteerd. Betreffende de twee laboratoria die negatief rapporteerden, ging het éénmaal om een staalwissel en éénmaal lijkt het om een slordigheid bij het invullen te gaan want de uiteindelijke interpretatie is okee. Bij alle gebruikte kits liggen de gemeten waarden duidelijk ver boven de cut-off, en zijn er voor de IgG-waarden in dit serum geen twijfels mogelijk in principe.

Wat de IgM bepaling betreft, ziet men een probleem met één commerciële kit, de kit AxSYM CMV IgM, waarmee de in totaal vier “vals-positieve” of “borderline” resultaten gemeten werden. Positief is dat de gebruikers van deze kit voor een deel het probleem kennen blijkbaar, gezien twee van deze 4 laboratoria een tweede IgM techniek in huis hebben, zodat ze de rapportering van een specifieke IgM kunnen onderscheppen en naar de clinicus toe een juiste eindinterpretatie kunnen geven.

Omtrent de uitvoering van een CMV IgG aviditeitsbepaling op dit serumstaal kan men initieel zeggen dat in routinesetting, er geen enkel argument is om bij een jonge gezonde man deze test uit te voeren. Waarschijnlijk werd de aviditeit toch door 20 laboratoria bepaald omdat het om een EKE ging.

Wanneer men de numerische resultaten bekijkt, zijn de bekomen waarden in orde. Over de manier van antwoorden kan men zeggen dat de twee als “laag” gerapporteerde waarden, als men de respectievelijke bijsluiters doorneemt, niet zo hadden dienen geïnterpreteerd te worden. Een waarde van 28% met de Diasorin aviditeitskit dient als “intermediaire of matige aviditeit” vermeld vanaf 20% tot 29% (<0.2 moet maar als lage aviditeit gezien). En een waarde van 75.5% op Vidas laat niet toe om een onderscheid te maken tussen recente of vroeger doorgemaakte primo-infectie, maar is niet laag (aviditeitsindex < 0.2 is een sterke indicator voor primo-infectie van minder dan 3 maanden oud). De weergegeven spreiding van de aviditeitsindices (Tabel 6.2.8) bekomen op Vidas (BioMérieux) wijzen er inderdaad op dat bij sera met aviditeitswaarden nabij de discriminatiedrempel tussen intermediaire en hoge aviditeit, er fluctuaties kunnen aanwezig zijn. Dit te verwachten gegeven beïnvloedt de performantiekarakteristieken van de testkit niet. Hoedanook kan de diagnose van infectieziekten niet stelselmatig vastgelegd worden louter op basis van een enkele test, maar dient een “intermediaire” aviditeit (die eventueel nabij de cut-off van hoge aviditeit ligt) geïnterpreteerd in associatie met klinische bevindingen, resultaten van andere diagnostische procedures of van controle-serum, en met medisch inzicht.

M. Reynders, AZ St-Jan, Brugge

Referenties

1. Barbi M, Binda S, Caroppo S, Primache V. 2006. Neonatal screening for congenital cytomegalovirus infection and hearing loss. *J Clin Virol.* 35:206-209.
2. Lazzarotto T, et al. 2008. New advances in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *J Clin Virol.* 41:192-197.
3. Lazzarotto T. 2010. The best practices for screening, monitoring, and diagnosis of cytomegalovirus disease, Part I. *Clinical Microbiology Newsletter.* 32(1):1-6.
4. Lazzarotto T. 2010. The best practices for screening, monitoring, and diagnosis of cytomegalovirus disease, Part II. *Clinical Microbiology Newsletter.* 32(2):9-15.