

**WETENSCHAPPELIJK INSTITUUT VOLKSGEZONDHEID
KWALITEIT VAN MEDISCHE LABORATORIA**

**COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE
COMITE VAN DESKUNDIGEN**

GLOBAL RAPPORT

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE VOOR
ANALYSEN KLINISCHE BIOLOGIE**

MICRO/SERO/PARA

ENQUETE 2012/03

Microbiologie

Klebsiella pneumoniae
Propionibacterium acnes

Parasitologie

Taenia species
Isospora belli

Serologie

HIV
Mycoplasma

WIV-12/03/Micro/Sero/Para/89

Dienst Kwaliteit van medische laboratoria
J. Wytsmanstraat, 14
1050 Brussel | België

www.wiv-isp.be

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
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. VERROKEN Alexia	:	02/764.67.32 – FAX : 02/764.69.33
	:	e-mail : alexia.verroken@uclouvain.be
Dr. WOESTYN Sophie	:	056/85.58.85 – FAX : 056/85.58.86
	:	e-mail : sophie.woestyn@skynet.be

Expertenvergadering : 10/01/2013

Toestemming verspreiding rapport : Kris Vernelen - 16/01/2013



Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

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

Inhoudstafel

I.	Algemene bemerkingen	1
II.	Identificaties	2
	2.1 M/11719, M/11720 et M/11721 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	2
	2.2 M/11726 <i>Propionibacterium acnes</i>	10
III.	Resultaten van de identificaties	18
	3.1 M/11719 <i>Klebsiella pneumoniae</i> (rectale wisser)	18
	3.2 M/11720 <i>Klebsiella pneumoniae</i> (bronchusaspiraata)	19
	3.3 M/11721 <i>Klebsiella pneumoniae</i> (urine)	20
	3.4 M/11726 <i>Propionibacterium acnes</i> (revisie van schouderprothese)	21
IV.	Antibiogram	22
	4.1 M/11719 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	22
	4.2 M/11720 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	33
	4.3 M/11721 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	44
V.	Parasitologie	63
	5.1 De monsters	63
	5.2 Resultaten voor staal P/11892	64
	5.3 Resultaten voor staal P/11967	68
VI.	Serologie	72
	6.1 <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	72
	6.1.1 Informatie betreffende de stalen	72
	6.1.2 De deelnemers	73
	6.1.3 Gebruikte reagentia	74
	6.1.4 Resultaten	76
	6.1.4.1. Staal S/7731	76
	6.1.4.2. Staal S/11713	80
	6.1.5. Commentaar op de enquête	84
	6.2 HIV	87
	6.2.1 Informatie betreffende het verstuurde staal	87
	6.2.2 De deelnemers	87
	6.2.3 Gebruikte reagentia	88
	6.2.4 Resultaten	89
	6.2.4.1. Staal S/5309	89
	6.2.4.2. Staal IS/8900	90
	6.2.4.3. Interpretaties	90
	6.2.5. Commentaar op de resultaten van het onderzoek	93

I. Algemene bemerkingen

Voor de 3^e evaluatie van het jaar 2012 (enquête 2012/3) werd volgend materiaal verzonden op 1 oktober 2012.

1.1 Vier gelyofiliseerde monsters voor identificatie.

Voor 3 monsters werden de resultaten van de gevoeligheidstesten gevraagd.

1.2 Twee geformuleerde fecesstalen voor parasitologisch onderzoek.

1.3 Vier plasmamonsters voor de serologie van **Mycoplasma** en **HIV**.

AANTAL DEELNEMERS

Het aantal evalueerbare antwoordbulletins bedroeg:

- | | | |
|----|------------------------------------|-----|
| 1. | Voor identificatie en antibiogram: | 163 |
| 2. | Voor parasitologie: | 156 |
| 3. | Voor de serologie: | |
| | Mycoplasma : | 148 |
| | HIV : | 165 |

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

Wij danken Marc Lontie en Geert Claeys 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"

Bacteriële uitstrijkjes voor kleuringen:

https://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/nl/microbiologie.htm
en vervolgens klikt u onder "Codes" op "Uitstrijkjes voor kleuringen"

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"

2.1 Culturen M/11719, M/11720 en M/11721 *Klebsiella pneumoniae*

Enterobacteriaceae die carbapenemase produceren

Definitie

Carbapenemase zijn β -lactamase die de penicillinen, de cefalosporinen (in de meeste gevallen), en in wisselende mate carbapenemase en monobactams (aztreonam) hydrolyseren (deze laatste worden niet gehydrolyseerd door de metallo- β -lactamase). Hoewel de aanwezigheid van deze enzymen gerapporteerd werd bij meerdere Gram-negatieve genera en species, zal dit commentaar zich beperken tot de enterobacteriaceae die carbapenemase produceren (CPE). De metallo-beta lactamase producerende *Pseudomonas* werden reeds in een vroegere enquête verstuurd (cf. EKE 2007/2).

Epidemiologie en klinisch belang

In Europa en meer bepaald in de landen rond de Middellandse zee (Italië, Griekenland), begon de verspreiding van de carbapenemase tegen het einde van de jaren '90. Deze carbapenemase werden voornamelijk bij *Pseudomonas aeruginosa* vastgesteld. Vanaf 2004 werd Griekenland getroffen door een ernstige epidemie, die veroorzaakt werd door een kloon van *Klebsiella pneumoniae* die een metallo- β -lactamase van het type VIM-1 produceerde, en deze werd snel gevolgd door een tweede epidemie vanaf 2006 die veroorzaakt werd door een *Klebsiella pneumoniae* die een carbapenemase van het type KPC (klasse A van Ambler) produceerde. Dit carbapenemase is momenteel het meest verspreide onder de Enterobacteriaceae in Europa. In Griekenland en Italië waren respectievelijk 60% en 15%, van de invasieve isolaten van *K. pneumoniae* (stammen geïsoleerd uit hemoculturen) intermediair gevoelig of resistent tegen de carbapenemase (Rapport EARS-Net ECDC, 2011). In de andere Europese landen werden zowel sporadische gevallen als epidemieën gerapporteerd, maar de prevalentie blijft laag ($\leq 1\%$). Onder de andere oprukkende carbapenemase, weerhouden we het New-Delhi Metallo- β -lactamase (NDM-1), dat zeer prevalent is in Indië, Pakistan en het Midden-Oosten. De carbapenemase van het type OXA-48 (klasse D van Ambler) die voor het eerst gerapporteerd werden in Turkije in 2004, en vervolgens wijdverspreid terug gevonden werden in Noord-Afrika (Marokko, Tunesië, Libië) en het Midden-Oosten (Egypte, Libanon,...) zijn degenen die zich het snelst verspreiden en er werden meerdere epidemieën gerapporteerd in het merendeel van de Europese landen sinds 2010.

In België, waar het surveillance-programma gezamenlijk opgestart werd door het WIV-ISP en het Nationaal Referentiecentrum (NRC), stellen we een toename vast van het aantal enterobacteriaceae die carbapenemase produceren, waarbij OXA-48 meer dan 80% vormen, gevolgd door KPC (ongeveer 15%). Loco-regionale epidemieën werden gerapporteerd in verschillende provincies, vooral veroorzaakt door het species *K. pneumoniae* (zeldzamer door andere species als *Enterobacter cloacae* of *Citrobacter freundii*). Een studie, uitgevoerd door het NRC in 2012 in 25 Belgische hospitalen schatte de prevalentie van enterobacteriaceae die niet gevoelig zijn aan carbapenemase (I of R) bij gehospitaliseerde patiënten van een grootteorde van 3%. En ongeveer 10% van deze stammen (ofwel een prevalentie van 0.3%) zijn carbapenemase-producers (voornamelijk *K. pneumoniae* OXA-48) (Huang TD et al, voorgelegd voor publicatie).

We moeten eveneens opmerken dat sinds 2012 *E. coli* stammen die het carbapenemase OXA-48 produceren meer en meer teruggevonden worden in de commensale flora en in de urine van niet-gehospitaliseerde patiënten. Tabel 1 vat de classificatie van de voornaamste carbapenemasen en hun distributiefrequentie in de verschillende species samen.

Resistentiemechanismen

Carbapenemasen worden voornamelijk gecodeerd door resistentiegenen die overgebracht worden door plasmiden of andere overdraagbare genetische elementen (transposons, insertiesequenties). Deze enzymen worden op verschillende niveaus tot expressie gebracht en ze oefenen een verschillende hydrolytische activiteit uit op de verschillende β -lactams in functie van hun biochemische activiteit en naargelang de klasse van Ambler (Klasse A, B of D) waartoe zij behoren. De fenotypes en het resistentieniveau tegen de carbapenems kunnen eveneens variëren in functie van het species en de frequente associatie met andere resistentiemechanismen (vb. : andere types van β -lactamasen zoals ESBL en/of AmpC cefalosporinase, overexpressie van efflux-pompen, vermindering van de permeabiliteit van de wand).

Niettemin is in de meerderheid van de gevallen een vermindering van de gevoeligheid voor carbapenems bij enterobacteriaceae niet te wijten aan de productie van carbapenemasen maar geassocieerd aan de aanwezigheid van een ESBL en/of AmpC cefalosporinase samen met een vermindering van de permeabiliteit van de wand door wijziging of deficiëntie van de porines.

In de meeste gevallen zijn de CPE resistent aan de derde (cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) en vierde (cefepime) generatie cefalosporines. De CPE van het type OXA-48 vertonen een verminderde gevoeligheid of een resistentie tegen carbapenems, maar ze blijven soms nog gevoelig aan de cefalosporines. Nochtans co-produceren de OXA-48-producerende enterobacteriaceae in de meeste gevallen een ESBL van het type CTX-M, en zijn ze dus ook resistent tegen de cefalosporines. De detectie van carbapenemasen heeft een groot epidemiologisch belang evenals een groot belang in termen van volksgezondheid (risico van verspreiding van de stammen en horizontale transmissie van de plasmiden van één species naar een ander). Nochtans blijft de noodzaak van de detectie van een carbapenemase om het resultaat van een antibiogram te bepalen controversieel. Het comité van EUCAST raadt niet aan om het resultaat te interpreteren, de impact van de aanwezigheid van een carbapenemase op de virulentie van de stammen en op de prognose van geïnfecteerde patiënten is nog niet goed gekend. Het is van mening dat de carbapenemasen een belangrijke klinische impact hebben (vermindering van de efficiëntie van een behandeling) als ze leiden tot een verminderde gevoeligheid voor, of volledige resistentie tegen carbapenems en dat de MIC-bepaling van één of meer ervan (imipenem, meropenem, ertapenem en doripenem) belangrijker is dan de drempelwaarde van de epidemiologische screening (Epidemiological cutoff values, ECOFFs) gedefinieerd door EUCAST (cf. Tabel 2).

Aanbevolen methoden voor de detectie van CPE

1. *Sceeningsgetsten*

De CPE hebben vaak een MIC onder de gevoeligheidslimiet van carbapenems ongeacht of deze gebaseerd is op de EUCAST- of CLSI-normen. Nochtans kunnen de screeningswaarden (ECOFFs) die gedefinieerd zijn door EUCAST nuttig zijn voor de screening op CPE (cf. Tabel 2). Meropenem biedt het beste compromis tussen gevoeligheid en specificiteit. Ertapenem heeft een uitstekende gevoeligheid, maar een geringe specificiteit (meer bepaald bij *Enterobacter* spp.) wegens zijn instabiliteit voor ESBL en cefalosporinasen wanneer deze geassocieerd zijn aan een vermindering van de permeabiliteit van de wand. Voor meropenem is de screeningsdrempelwaarde aanbevolen door EUCAST voor detectie van CPE gedefinieerd als een MIC >0.125 mg/L en een diameter < 25 mm. Nochtans hebben, gebaseerd op de Belgische ervaringen, een belangrijk aantal CPE van het type OXA-48 een inhibitiezone die groter is dan 24 mm, en is het waarschijnlijk aan te raden om elke enterobacterie met een diameter < 27 mm als verdacht op CPE te beschouwen. Om de specificiteit te bewaren zijn voor imipenem en ertapenem de screeningsdrempelwaarde voor carbapenemasen een dubbele verdunning hoger (>1 mg/L voor imipenem; >0.125 mg/L voor ertapenem) dan de ECOFF die door EUCAST gedefinieerd zijn.

Het lijkt eveneens belangrijk eraan te herinneren dat *K. pneumoniae* (niet *Klebsiella oxytoca*) en in mindere mate *E. coli* de 2 species zijn waarbij carbapenemasen het meest voorkomen. De aanwezigheid van CPE blijft momenteel zeer uitzonderlijk bij bepaalde species van enterobacteriaceae (vb. : *Enterobacter aerogenes*, *Proteus* spp., *Morganella* spp., *Providencia* spp.) voor dewelke een vermindering van de gevoeligheid aan carbapenems het meest frequent te wijten is aan een combinatie van resistentiemechanismen (vb: ESBL en/of cefalosporinase + verlies van porine en/of PBP van de wand met een verminderde affiniteit voor carbapenems)

2. *Bevestigingsmethoden*

Fenotypische testen die de aanwezigheid van een synergie tussen meropenem en carbapenemase-inhibitoren opsporen, kunnen gemakkelijk uitgevoerd worden maar ze zijn traag en laten slechts na minimum 18-24 uur toe om een resultaat te bekomen.

Het algoritme voorgesteld in Tabel 3 laat toe om de metallo- β -lactamasen (klasse B), de carbapenemasen van klasse A, deze van klasse D en stammen die geen carbapenemasen (ESBL en/of AmpC plus porine-verlies) produceren te onderscheiden. Deze testen kunnen uitgevoerd worden met de agar diskdiffusie methode volgens de normen van EUCAST of CLSI. Papieren disks die inhibitoren bevatten kunnen in house geproduceerd worden. Momenteel bestaat er één kit die tabletten gebruikt gecommmercialiseerd (Neosensitabs Rosco, Denemarken) en waarschijnlijk zullen gelijkaardige testen binnenkort door andere producenten op de markt gebracht worden.

Er bestaan momenteel geen inhibitoren van de carbapenemasen van klasse D. High-level resistentie tegen temocilline (MIC \geq 256 mg/l; afwezigheid van een inhibitiezone rond een schijfje) vormt een goede fenotypische marker voor de differentiatie tussen een OXA-48 CPE en de combinatie van een ESBL en porine-verlies (geen high-level resistentie tegen temocilline). De aanwezigheid van een high-level resistentie tegen piperacilline/tazobactam is eveneens een goede indicator van de aanwezigheid van een OXA-48 (zeker indien deze resistentie geassocieerd is aan de resistentie tegen temocilline). Nochtans is geen enkele van deze merkers individueel specifiek voor OXA-48, aangezien andere resistentiemechanismen tot dezelfde fenotypes kunnen leiden.

Het is af te raden de Hodge-test in routine te gebruiken, want de uitvoering ervan is complex (moeilijk om te standaardiseren, noodzaak om positieve en negatieve

controlestammen te gebruiken), de interpretatie moeilijk (slechte reproduceerbaarheid) en de gevoeligheid en specificiteit zijn matig.

Recent werden meerdere methoden voorgesteld die gebaseerd zijn op de hydrolyse van de carbapenems door MALDI-TOF, door spectrofotometrische meting of door biochemische colorimetrische methode (Carba NP test). Deze testen kunnen rechtstreeks op de kolonies uitgevoerd worden (voorafgaand aan de uitvoering van het antibiogram) en laten toe om met de MALDI-TOF een resultaat te bekomen na enkele uren en met de Carba NP test na slechts 60-120 min; op deze wijze bieden zij het voordeel dat zij gebruikt kunnen worden in het kader van een snelle screening op CPE. In tegenstelling tot de spectrofotometrische methoden en de MALDI-TOF, vereist de Carba NP geen enkel specifiek apparaat en kan deze dus geïmplementeerd worden in alle laboratoria. In preliminaire evaluaties toonde de Carba NP uitstekende performanties, met een gevoeligheid en specificiteit van nagenoeg 100%. Bovendien zou een gemodificeerde test (Carba NP II test) die gebruik maakt van specifieke inhibitoren toelaten om het type carbapenemase exact te identificeren. Deze methoden werden echter enkel geëvalueerd in een beperkt aantal onderzoekslaboratoria en vereisen nog een validatie op grotere schaal. De toekomstige commercialisering van deze snelle testen (meer bepaald de Carba NP test) zou hun gebruik in routine-laboratoria moeten toelaten.

Genotypische methoden gebaseerd op PCR werden gerapporteerd. Deze technieken vereisen een gespecialiseerde molecuulair-biologische infrastructuur en blijven trouwens te duur voor gebruik in routine. Gecommercialiseerde methoden die gen-amplificatie (door ligase-PCR) en specifieke hybridisatie op DNA biochip combineren, zijn eveneens beschikbaar en laten toe om resultaten (exacte detectie van het CPE-type en van andere types van beta-lactamases) te bekomen in enkele uren. In het algemeen, hebben genotypische methoden het nadeel dat zij geen detectie van nieuwe types of varianten van bestaande carbapenemases toelaten en hun gebruik blijft nog beperkt tot enkele gespecialiseerde laboratoria en referentiecentra.

Commentaar met betrekking tot de stammen die in deze EKE verstuurd werden

De drie *Klebsiella pneumoniae* stammen die verstuurd werden in de EKE 2012/3 waren alle drie carbapenemase-producers en beantwoordden dus aan de definitie van CPE (« Carbapenemase Producing Enterobacteriaceae »).

Stam **M/11719** produceerde een metallo- β -lactamase (klasse B van Ambler) van het type VIM-1 (Verona IMipenemase). Stam **M/11720** produceerde een carbapenemase van het type KPC (Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase, klasse A van Ambler), en stam **M/11721** was drager van een carbapenemase van het type OXA-48 (klasse D van Ambler).

De speciesidentificatie stelde geen problemen, bijna alle laboratoria hebben de drie species correct geïdentificeerd als *Klebsiella pneumoniae*.

Ondanks de diversiteit in de gebruikte complementaire testen bij het antibiogram, hebben de meeste laboratoria de aanwezigheid van een carbapenemase gedetecteerd of vermoed (met de precisering dat ze een dergelijke stam naar het referentiecentrum zouden sturen voor zijn identificatie als CPE). Zoals gevraagd in de kwaliteitscontrole, hebben een aantal laboratoria voorgesteld bijkomende antibiotica te testen op de 3 stammen; de meest vermeldde waren colistine, tigecycline en gentamicine

Stammen **M/11719** et **M/11720** vertoonden een high level resistentie tegen de carbapenems (MIC ≥ 32 mg/L) en waren daarenboven resistent tegen alle geteste antibiotica. Een aantal laboratoria hebben bijkomende testen uitgevoerd (synergietest

via de schijfjesmethoden gecombineerd met een specifieke inhibitor, gewijzigde Hodgetest, MIC via E test voor temocilline,...). Stam **M/11719** produceerde geen ESBL (gevoeligheid voor aztreonam was nog aanwezig, gezien dit antibioticum niet gehydrolyseerd wordt door metallo- β -lactamase) terwijl stam **M/11720** coproducer was van een ESBL van het type SHV-12. De detectie van ESBL of van andere types van β -lactamase is moeilijk aan te tonen door fenotypische testen aangezien de aanwezigheid van deze β -lactamase (aan te tonen door de synergie tussen cefalosporines van de derde generatie en clavulaanzuur) gemaskeerd kan worden door het carbapenemase. Bij CPE, kan een geassocieerde ESBL fenotypisch aangetoond worden door gebruik van syngietesten in aanwezigheid van specifieke inhibitoren van carbapenemase (vb: EDTA voor de metallo- β -lactamase, boorzuur voor de carbapenemase van klasse A). Nochtans lijkt de detectie van een ESBL in aanwezigheid van een carbapenemase van secundair belang zowel wat betreft kliniek als ziekenhuishygiëne

Stam **M/11721** produceerde slechts één enkel enzyme van het type OXA-48, dat een low level expressie vertoonde met een MIC voor meropenem van 0.25 mg/L en een inhibitiezone van 22 mm (limietgevoeligheid). Indien men zich enkel baseert op de kritische concentraties voor klinische categorisering zoals gedefinieerd door EUCAST, zou een dergelijke stam nog als gevoelig beschouwd worden en het is dus belangrijk de screeningsdrempelwaarden voor detectie van low level carbapenemase in rekening te brengen. Deze stam stelde de meeste problemen, meer dan de helft van de laboratoria rapporteerden de stam als gevoelig of intermediair (ruw resultaat). Wat betreft de klinische interpretatie raadt EUCAST momenteel aan om de gevoeligheid voor carbapenemase effectief te rapporteren in functie van de MIC-waarden en de resultaten niet te wijzigen op basis van de aanwezigheid van een carbapenemase. Deze aanbeveling blijft echter controversieel **want er bestaan slechts weinig klinische gegevens die de therapeutische efficiëntie van carbapenemase aantonen in geval van infectie door CPE-stammen waarvan de MIC lager ligt dan de kritische concentraties van de klinische drempels (en dus nog gevoelig)**. Met betrekking tot de rapportage van het resultaat is het geraadzaam, zeker in het kader van ernstige infecties (vb. : positieve hemoculturen) **een commentaar toe te voegen dat preciseert dat het gebruik van carbapenemase in dergelijke situatie enkel mogelijk is na overleg tussen de clinicus en de microbioloog of infectioloog**.

In geval van een infectie met een CPE is het belangrijk dat **de laboratoria kwantitatieve methoden (MIC-bepalingen) gebruiken**, die toelaten om met precisie en volgens een standaardprotocol de gevoeligheid of resistentie van deze stammen te bepalen voor carbapenemase en eventuele andere antibiotica-classes, waarvan men zou overwegen ze te gebruiken in de behandeling.

In geval van carbapenem-therapie, is het eveneens van groot belang de MIC-waarde van de stam te controleren met een andere methode (vb: E test of microdilutie) dan deze die gebruikt wordt voor het routine-antibiogram. In geval van discordantie tussen de resultaten, moet men rekening houden met het resultaat van de referentiemethode (i.e: MIC via microdilutie in bouillon). In België zijn microdilutieplaten van Sensititre beschikbaar (Sensititre® GNX2F panels, Trek Diagnostic Systems, Cleveland, USA).

Ook hier hebben een groot aantal laboratoria de aanwezigheid van een carbapenemase vermoed of herkend en hebben correct gesuggereerd dat een dergelijke stam naar het referentielaboratorium gezonden moet worden voor bevestiging van het resistentiemechanisme.

Op elke verdachte stam die het referentiecentrum ontvangt voert het eerst fenotypische testen uit (bevestiging van de bacteriële identificatie met MALDI-TOF MS, uitgebreid antibiogram (16 antibiotica) met agar diskdiffusie, hydrolyse testen van de carbapenems door de carba NP test). In functie van de resultaten hiervan, worden 2x per week (dinsdag en donderdag) complementaire testen uitgevoerd (gen amplificatie via multiplex PCR). Positieve resultaten voor CPE worden langs elektronische weg meegedeeld, en de definitieve papieren protocollen worden eenmaal per week uitgedrukt (elke vrijdag). De maximum turn around time van het NRC voor ESBL/Carbapenemase was 10 dagen en overschreed in meer dan 90% van de gevallen de 7 dagen niet.

Om het antwoord te versnellen wordt er met aandrang aan de externe laboratoria gevraagd om verse culturen op agarmilieu op te sturen liever dan in diepe bodems (aangezien in deze gevallen de stam eerst op agar overgeënt moet worden, wat het uitvoeren van de testen met 24 uur vertraagt).

Pr. Y. Glupczynski, Centre national de référence
des bactéries à Gram-négatif multi-résistantes, CHU UCL Mont-Godinne

Tabel 1. Classificatie van de verworven carbapenemases met plasmidische overdracht en verdeling over de genera/species van Gram-negatieve bacteriën.

Moleculaire klasse (Ambler)	Carbapenemases	Entero-bacteriaceae	Niet-vergisters
A (niet-metallo)	KPC IMI, NMC, SME	+++ +	+ -
B (metalloy)	IMP, VIM NDM AIM, DIM, SIM, SPM, TMB	+++ +++ -	+++ ++ +
D (niet-metallo)	OXA-48, -181 OXA-23, -40, -58, -143	+++ +/-	- +++

Tabel 2. Concentraties en kritische diameters van de carbapenems volgens de aanbevelingen van EUCAST (Versie 3.0, 1/1/2013) en screeningsdrempelwaarden voor de detectie van Enterobacteriaceae die carbapenemases produceren (CPE).

Carbapenems	MIC (mg/L)		Agar diskdiffusie (inhibitiediameter in mm)	
	Breakpoint S/I	Screening cut-off	Breakpoint S/I	Screening cut-off
Meropenem ¹	≤2	>0.125	≥22	<25 ²
Imipenem	≤2	>1	≥22	<23
Ertapenem ³	≤0.5	>0.125	≥25	<25

1 Beste compromis tussen gevoeligheid en specificiteit.

2 Volgens de Belgische ervaring, hebben een belangrijk aantal stammen die de OXA-48 carbapenemases produceren een inhibitiezone voor meropenem die groter is dan de screeningsdrempelwaarde die momenteel door EUCAST aanbevolen wordt (zone van 24-26 mm); in geval van een bewezen epidemie door een CPE die het carbapenemase OXA-48 produceert, is het aangewezen een screeningsdrempel te hanteren voor meropenem van <27 mm, hoewel dit een vermindering van de specificiteit van de test kan meebrengen.

3 Hoge gevoeligheid maar lage specificiteit (meer bepaald voor *Enterobacter* spp); het gebruik van enkel ertapenem (zonder meropenem) wordt niet aanbevolen; in geval van een bewezen epidemie kan het gebruik van ertapenem als screening daarentegen zeer interessant zijn vanwege zijn hoge gevoeligheid in de detectie van CPE (meer bepaald OXA-48 en KPC).

We dienen op te merken dat de antibiotica-galerijen van de automaten carbapenem-concentraties (ertapenem en meropenem) bevatten die te hoog zijn (de laagste concentratie bedraagt meestal 1 mg/L), hetgeen helaas niet toelaat ze te gebruiken in de screening voor CPE.

Tabel 3. Fenotypische detectiemethoden via synergie met verschillende carbapenemase-inhibitoren

β-lactamase	Synergie in aanwezigheid van meropenem schijfjes (10-μg) in combinatie met verschillende inhibitoren			Temocilline (MIC >128 mg/L)
	DPA/EDTA	Boorzuur (APBA)	CLOX	
MBL	≥5	-	-	+
KPC	-	≥4	-	V
OXA-48-like¹	-	-	-	+
AmpC + porin loss	-	≥4	≥5	V
ESBL + porin loss	-	-	-	-

MBL=metallo-β-lactamase, KPC=*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, DPA= dipicolinezuur, EDTA=ethylenediaminetetraacetic acid, APBA= aminofenyl boorzuur, CLOX= cloxacilline.

¹ Het is aanbevolen temocilline te testen in geval er geen enkele synergie vastgesteld wordt in aanwezigheid van specifieke inhibitoren, ten einde de stammen met ESBL en porineverlies te onderscheiden van de OXA-48.

2.2. Cultuur M/11726 *Propionibacterium acnes*

Bacteriologie, kweek en identificatie :

Propionibacterium acnes (PA) is een bacterie uit het genus *Propionibacterium*, een genus dat gekenmerkt wordt door propionzuur als belangrijkste vetzuur als metaboliet van glucose-vergisting (vandaar de genusnaam).

PA is in principe een anaerobe bacterie, maar is aerotolerant en in de praktijk groeit die praktisch even goed in aerobe als in anaerobe atmosfeer, zoals wellicht bij dit isolaat kon worden ervaren. In primaire culturen groeit PA vaak slechts na een 5 tot 8-tal dagen, bij verdere subculturen groeien de kolonies reeds na 1 (zeer kleine kolonies) tot 2 dagen.

Microscopisch heeft PA de morfologie van (gram-positieve) difteroïde staafjes. Gecombineerd met de vaak aerobe groei, de algemene vaststelling dat de meeste corynebacterium huid-en mucosa-bewoners zijn, de kennis dat deze meestal niet van klinisch belang zijn, kan het best zijn dat PA als een corynebacterium wordt beschouwd en dus niet of verkeerd wordt geïdentificeerd.

Goed gegroeide kolonies hebben een typisch uitzicht (zie foto), en de identificatie kan bevestigd worden door klassieke biochemische testen of met klassieke galerijen of pannels. Belangrijke kenmerken zijn Indol + katalase+, een unieke combinatie voor deze groep van gram+bacteriën. Zoals voor zoveel bacteriën verloopt de identificatie met MaldiTof spectrografie bijzonder vlot.

Ecologie :

PA is een humane bacterie, die in grote aantallen voorkomt in de huid, en ook op de slijmvliezen. Recente studies toonden aan dat verschillende populaties, in verschillende zones kunnen worden onderscheiden (zie figuur 1). De densiteit kan zeer hoog zijn in (een deel van) de haarzakjes, waar de bacterie in biofilmconditie aanwezig is. Bacteriën in biofilm hebben andere fysiologische, en biologische, en wellicht ook pathogenetische kenmerken, en zeker een andere gevoeligheid voor antimicrobiële middelen dan als ze 'planktonische fase' (in proefbuisjes) groeien.

In de huid is PA zeker honderdvoudig keer talrijk dan coagulase-negatieve stafylokokken. Wellicht speelt de bacterie een rol in de kolonisatie-resistentie van de huid t.o.v. andere bacteriën.

Bijzondere biologische kenmerken van PA :

Toen we in 1994 PA uit een longbiopsie kweekten, wilden we aantonen dat de bacterie wel degelijk in het weefsel aanwezig was, en bereidden een antiserum voor histochemische kleuring van de longcoupes. Een konijn werd gevaccineerd met een geformoliseerde suspensie van PA. Toen het dier werd gedood om het serum te collecteren waren op de injectieplaats een aantal nodules aanwezig, die er macroscopisch als caseuze massa's uitzagen, en waarvan de histologie er uitzag als die van tuberculose. Een belangrijk detail was dat (na 3 weken) zeer talrijke difteroïde staven nog aanwezig waren (en dus niet 'verteerd' ondanks fagocytose).

Er is een uitgebreide literatuur over de merkwaardige immuno-modulerende kenmerken van PA. De bacterie is gekend voor het veroorzaken van granulomas bij proefdieren, kan belangrijke veranderingen veroorzaken in het reticuloendotheliaal stelsel, kan blijven

bestaan dood zowel als levend in macrofagen en weefsel (de sterkste resistentie wordt gevonden in post-lag fase bacteriën, of bacteriën die met chloramfenicol of tetracycline zijn behandeld), werd vroeger ook *Corynebacterium parvum* genoemd, werd en wordt als dusdanig gebruikt als adjuvans bij kankertherapie.

Het valt buiten het bestek van deze beschrijving maar PA is voor sommigen nog steeds een sterk verdachte (zij het door anderen betwiste) kandidaat als verwekker van sarcoïdose en prostaatCA, er verschijnen hierover nog belangrijke en waardevolle studies, maar het ultieme etiologische bewijs is nog niet geleverd.

Infecties:

Acne: de bijdrage van PA tot acne letsels valt buiten de scope van deze bespreking

Contaminatie: gezien de locatie en biologie van de bacterie is het begrijpelijk dat PA aanwezig kan zijn in kleine aantallen in allerlei klinische oppervlakkige en diepe stalen. Aanwezigheid in hemoculturen wijst in een overgrote meerderheid van de gevallen op contaminatie

Gezien aanwezig op huid en mucosa kan *P. acnes* deel uitmaken van de microflora die gevonden wordt in allerlei **aeroob-anaerobe menginfecties**.

Orthopedische prothese-infecties

PA is inderdaad gekend als de belangrijkste verwekker van infecties bij schouder arthroplastie, en ook, maar in mindere mate verantwoordelijk voor infecties geassocieerd aan knie- en heupprothesen.

De diagnose van **prothese geassocieerde infectie** is vaak heel moeilijk, vooral de low-grade infecties, waarbij pijn en 'loosening' vaak de enige symptomen zijn, niet te onderscheiden van loosening door sleet, polyethyleenziekte. Klinisch is er hiermee een grote gelijkens en bovendien zijn de inflammatoire parameters (sedimentatiesnelheid, CRP...) vaak volledig normaal. En de relevantie van gekweekte bacteriën is niet automatisch duidelijk. Er is geen 'gouden standaard' definitie van low-grade-prothese infectie.

In een studie werden positieve kweken gevonden in 58 % van patiënten die primaire 'clean orthopedic surgery' ondergingen. In meerdere studies werd in materiaal afgenomen bij prothese revisie PA gevonden, bij een groot deel werd geen antibiotica toegediend zonder het optreden van infectie naderhand.

Zeer interessante informatie over deze complexe topic vind je in 2 artikels uit Clinical Microbiological Newsletter uit 2011 (zie referentielijst).

Bij het bestuderen van onze routine monsters van de laatste 12 maanden, waarbij we een specifieke interesse hadden voor PA (en onze kweektechnieken hadden aangepast met verlengde incubatie van sommige monster-types) vonden we de bacterie inderdaad verassend frequent. Na lezing van de literatuur en het vinden van de bacterie in meerdere gevallen gingen we systematisch langer incuberen, meer bodems gebruiken, en de orthopedisten namen meer stalen af. We ontdekten ook infecties van andere prothesen.

Andere vreemd lichaam infecties

We konden onze bevindingen van het laatste jaar ook toetsen aan de literatuur:

- Aanwezig in uitstrijkjes van verwijderde borstprothesen, zonder tekenen van infectie, bij het plaatsen van een definitieve prothese (uit de literatuur blijkt dat 50 % van verwijderde borstprothesen gekoloniseerd zijn met bacteriën, meestal huidbacteriën)
- Meerdere holterdraininfecties (de drains werden verwijderd wegens slecht functioneren, of wegens het ontstaan van nodi langs het cateter-trajekt), meerdere pacemaker infecties
- Meerdere infecties (of kolonisaties?) van schedelluik of vreemd materiaal gebruikt in neurochirurgie (uit de literatuur blijkt dat schedel-botflappen zeer frequent gecontamineerd zijn met huidbacteriën)
- Aanwezigheid van PA in stalen via punctie of bij operatie afgenomen in hersenweefsel, in veel gevallen zijn er absoluut geen argumenten voor infectie
- Meerdere infecties van vaatprothesen
- In andere peroperatieve stalen, fistelkweken,waarbij de relevantie zeer betwistbaar is

Andere infecties: PA is ook een zeldzame verwekker van endocarditis, endophthalmitis (na heelkunde)

Optimale detectie van PA :

- In ieder geval voldoende lang incuberen (14 dagen lijkt noodzakelijk, bij verlengde incubatie tot 3 weken worden nog positieve kweken gevonden, waarvan het klinisch belang zeer onduidelijk is)
- Ultrason: gezien de biofilm kan men de bacteriën evt los maken in het staal door sonicatie. De gevoeligheid zal zeker toenemen, maar is duur, omslachtig en zeker niet gemakkelijk (juiste toestel en afstelling ervan), en er is risico voor contaminatie. Bovendien moet bij gebruik van ultrason rekening gehouden worden met een drempel: indien minder dan 5 kolonies groeien, moet men dit als niet-relevant beschouwen. Dit argument illustreert eens te meer dat een positieve kweek niet automatisch significant is.
- Multiplex PCR detectie is ook een mogelijkheid om de detectie te verbeteren: in een vergelijking met kweek na ultrason werden in beide richtingen discrepanties vastgesteld: ook deze techniek levert geen perfecte resultaten
- Eigen ervaring in Urgent: we ontdekten dat PA een specifieke groeiwijze vertoont in thiogycollaat bouillon, en konden dit uitgebreid evalueren. Heel typisch groeit PA in deze bodem als kleine bolletjes, pas na 4-6 dagen verschijnend, en bij verdere incubatie verder toenemend in volume tot 2-3 mm, zonder uiteen te vallen (zo er niet wordt geschud). Voordeel is: compacte bodem (agarbodems bewaren in de broedstoof voor 2-3 weken betekent een grote volumecapaciteit), zonder manipulatie kan gemakkelijk 7, 14 tot zelfs 21 dagen worden bestudeerd.
- Andere bodems: wij vonden veel meer PA op anaeroob geïncubeerde Schaedler agar (21 dagen) dan uit Thioglycloaat-bouillon (21 dagen); op aerob

geincubeerde sheep-blood agar (7 dagen) was de opbrengst nog minder (reden is niet echt duidelijk: anaerobe atmosfeer?, rijkere bodem?, langere incubatie?)

Van belang ook voor aanvragende arts:

- Voldoende stalen afnemen (bij orthopedische interventies worden vaak 4 tot 6 monsters genomen), voldoende materiaal kweken (niet alleen uitstrijkjes, ook weefselfragmenten), op meerdere bodems kweken
- Antibioticumvrij interval voordat via heelkunde materiaal voor kweek wordt gepreleveerd.
- Communicatie en interpretatie: kwantitatief rapporteren, communicatie met chirurg, vergelijken met histologische bevindingen. Kennis van de problematiek van prothese-infecties en PA.

Gevoeligheid voor antibiotica, behandeling, preventie :

P. acnes is gevoelig aan penicillines, clindamycine, linezolid, vancomycine, tigecycline, cotrimoxazole, rifampicine, chinolones en tetracyclines maar niet aan metronidazole. In studies waarbij biofilm-bacteriën worden getest voor verschillende antibiotica zijn de gevonden MICs honderdvoudig verhoogd en zijn deze antibiotica dus niet werkzaam. Er zijn suggesties dat combinatietherapie met rifampicine een beter optie zou zijn, maar het laatste woord is hierover niet gezegd.

Amoxicilline lijkt een handig antibioticum en wellicht eerste keuze bij afwezigheid (verwijdering) van het vreemd lichaam. Het is niet duidelijk of PA wel kan geëlimineerd worden uit prothese-geassocieerde biofilm met antibiotica, zonder 'herhaaldelijke' verwijdering van het vreemd materiaal. Langdurige behandeling met antibiotica, het gebruik van spacers met antibiotica voor een tijdelijke vervanging van het gewricht zijn courant in deze situaties.

Uit deze vaststellingen en uit de praktijk, met onder meer het ontbreken van goede inflammatie-parameters voor opvolging is het beleid van protheseinfecties niet gemakkelijk: voor sommige is tijdelijke of definitieve verwijdering wel mogelijk (bv pacemakers), voor andere, bv gewrichtsprothesen is dat veel moeilijker

Resistentie tegen desinfectie: PA wordt minder gemakkelijk gedood bij klassieke preoperatieve desinfectie dan coagulase-negatieve stafylokokken. Dat kan te wijten zijn aan de diepe locatie, aan de enorme populatie-densiteit, en aan de biofilm-fase.

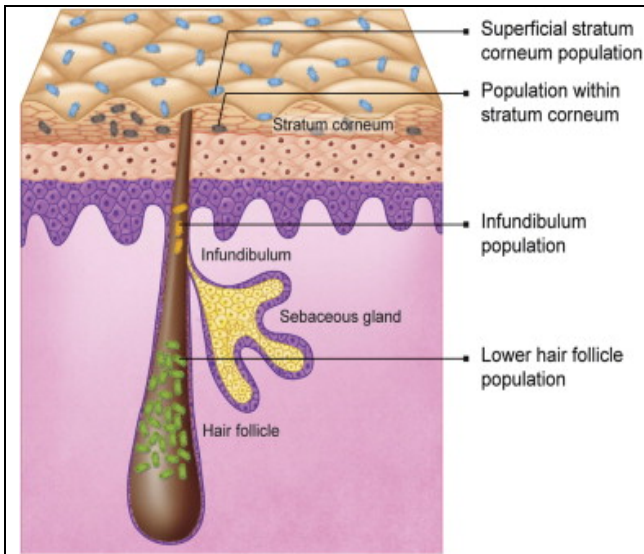
Besluit :

PA heeft unieke biologische kenmerken en een unieke habitat in het menselijk lichaam, die verklaren waarom de bacterie tijdens chirurgie in het weefsel kan worden gebracht, en in bepaalde gevallen (vooral bij aanwezigheid van vreemd lichaam) niet wordt geëlimineerd door de macrofagen of zelfs met antibiotica. Aanwezigheid in klinische monsters kan zowel contaminatie, als kolonisatie, als infectie betekenen. Infecties kunnen asymptomatisch als symptomatisch zijn, verlopen vaak zeer chronisch, kunnen ontstaan vele maanden tot jaren na de ingreep. Interpretatie van PA in een klinisch monster is een delicate evenwichtsoefening en het management van (vooral orthopedische) prothesen waarbij er al dan niet een duidelijke infectie is een echte challenge.

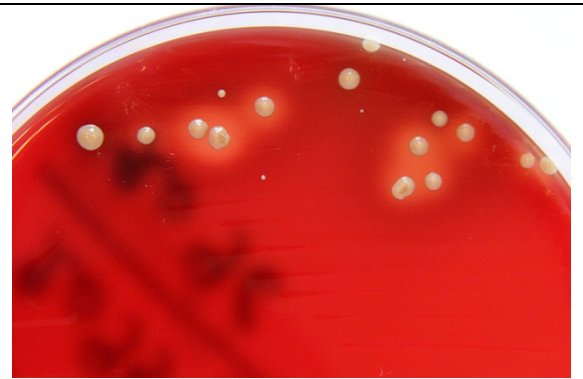
Referenties

(Van het zeer groot aantal publicaties een kleine selectie)

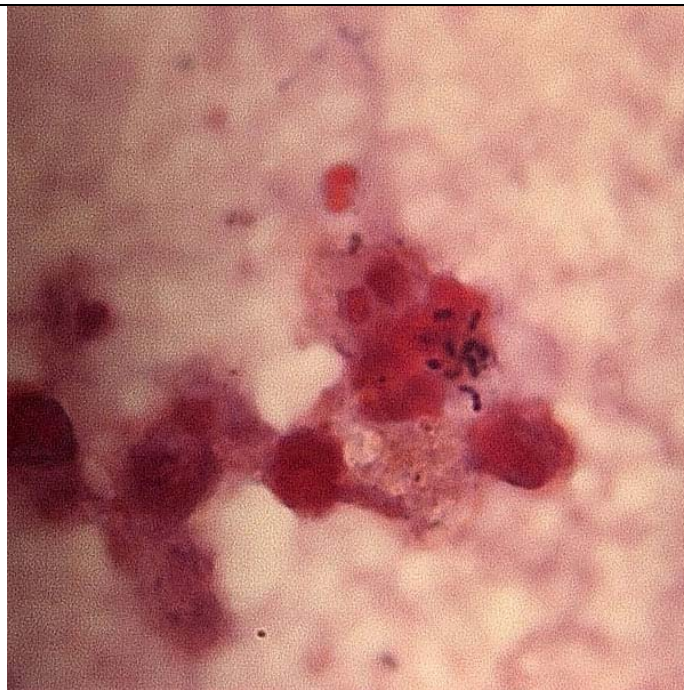
1. Bronchopneumonia caused by *Propionibacterium acnes*. G.Claeys, G.Verschraegen, C.De Potter, C.Cuvelier, R.Pauwels . Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 13,747-9, 1994
2. Eric Gomez and Robin Patel. Laboratory Diagnosis of Prosthetic Joint Infection, Part I. Clinical Microbiology Newsletter 2011: 33, 55-60.
3. Eric Gomez and Robin Patel. Laboratory Diagnosis of Prosthetic Joint Infection, Part II. Clinical Microbiology Newsletter 2011: 33,63 – 70.
4. Hyun Jung Park, Shin Na, Seong Yeon Park, Song Mi Moon, Oh-Hyun Cho, Ki-Ho Park, Yong Pil Chong, Sung-Han Kim, Sang-Oh Lee, Yang Soo Kim, Jun Hee Woo, Mi-Na Kim and Sang-Ho Choi. Clinical Significance of *Propionibacterium acnes* Recovered from Blood Cultures: Analysis of 524 Episodes. Journal of Clinical Microbiology, 2011,49, 1598-1601.
5. Butler-Wu S.M., E.M. Burns, P. S. Pottinger, A.S. Magaret, J.L. Rakeman, F. A. Matsen and B.T. Cookson. Optimization of Periprosthetic Culture for Diagnosis of *Propionibacterium acnes* Prosthetic Joint Infection. Journal of Clinical Microbiology,. 2011,49; 2490-2495.
6. Alexeyev O.A., A.C.Jahns. Sampling and detection of skin *Propionibacterium acnes* : current status. Minireview. Anaerobe 2012; 18, 479-83.
7. Kanafi Z.A., D.J sexton and E.L. Baron. Invasive Propionibacterium infections. <http://www.uptodate.com/contents/invasive-propionibacterium-infections> (2011)
8. Piper, K.E. et al.. Microbiologic diagnosis of prosthetic shoulder infection by use of implant sonication. J. Clin. Microbiol. 2009; 47,1878-1884.
9. Dodson C.E., E.V.Craig, F.A. Cordasco,D. M. Dines, J.S. Dines, M.E. DiCarlo, B.D. Brause, R.F. Warren. *Propionibacterium acnes* infection after shoulder arthroplasty: A diagnostic challenge J Shoulder Elbow Surg. 2010; 19, 303-307



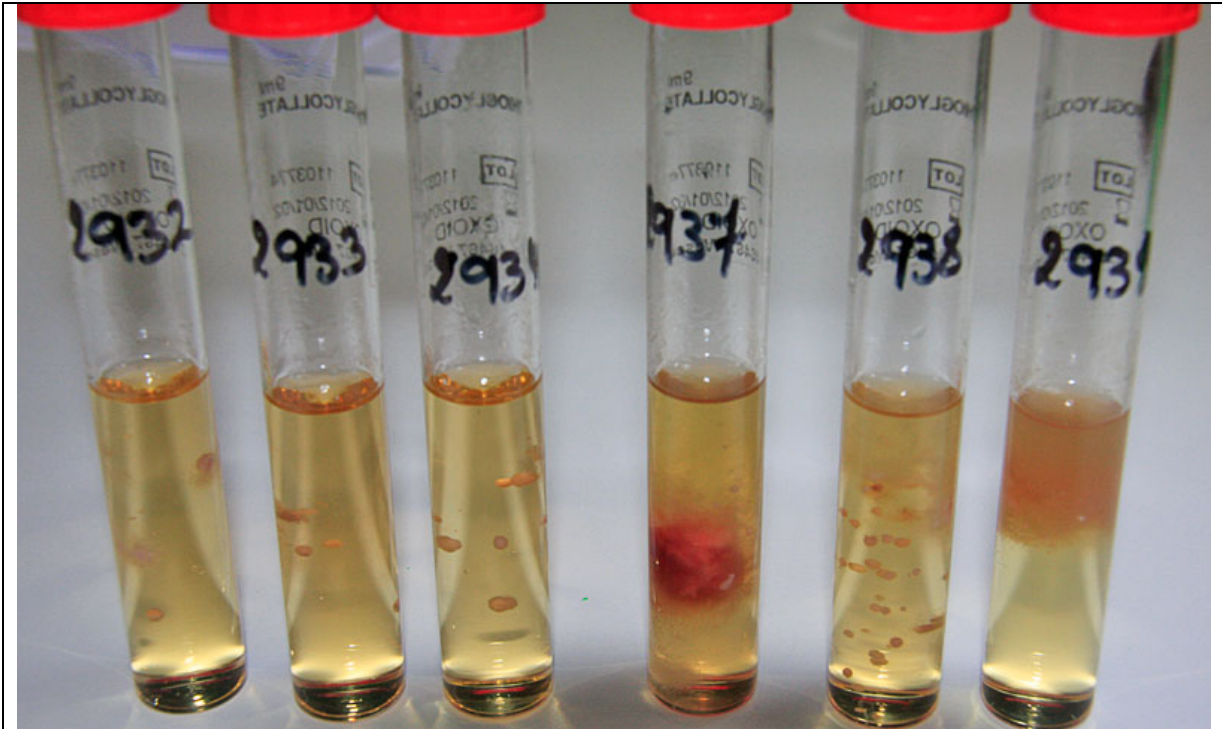
Figuur 1. Distributie van *P. acnes* in de huid. 4 zones kunnen worden onderscheiden: in de haarfollikel is de meest dense populatie; deze heeft bovendien biofilmkenmerken. De verschillende populaties hebben verschillende biologische kenmerken (with permission from O.Alexeyev).



Figuur 2. Typisch uitzicht van volgroeide kolonie van *P. acnes* op bloedagar, aerob of anaerob.



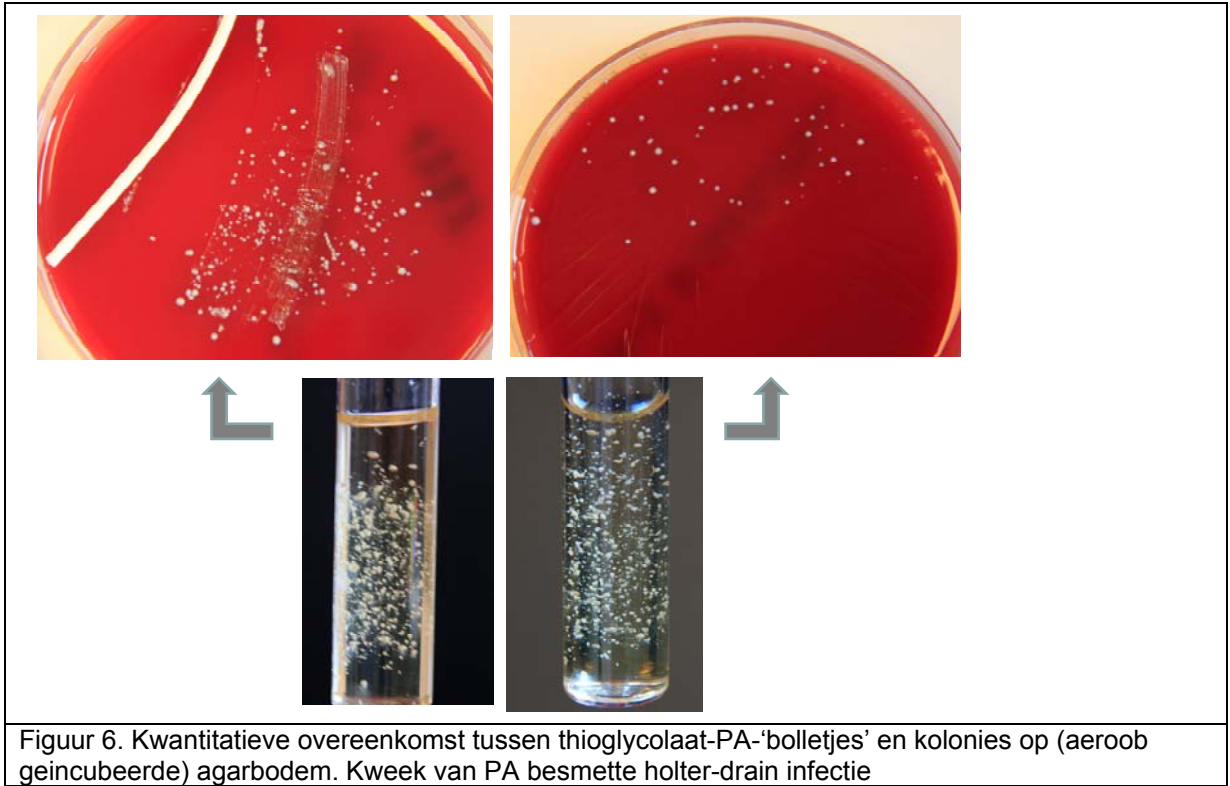
(Links) figuur 3: gramkleuring van uitstrijk van *P. acnes* geïnficeerd weefsel (subdurale bloedcollectie na verwijdering van een meningeoom).



Figuur 4. *P. acnes* in thioglycolaat-medium. 6 stalen afgenomen bij een prothese-revisie tonen verschillende aantallen kolonies ('bolletjes'). De bolletjes ontstaan na 5-7 dagen, en groeien verder aan. De voedingsbodem mag na inoculatie niet meer geschud worden.



Figuur 5. Macrokolonies van *P. acnes* op bioptmateriaal in thioglycolaat broth.



III. Resultaten van de identificaties

165 laboratoria hebben een antwoord ingestuurd. Naast 163 Belgische en Luxemburgse waren dit 2 buitenlandse. Deze laatste 2 werden niet in de verwerking der resultaten opgenomen.

De correcte of aanvaardbare resultaten zijn onderlijnd.

3.1 Cultuur M/ 11719 *Klebsiella pneumoniae* (rectale wisser)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Stam geïsoleerd uit een rectaal screeningsstaal bij een 43-jarige man die vanuit Kreta overgebracht werd. Identificatie tot op het speciesniveau is vereist."

<u><i>Klebsiella pneumoniae</i></u>	135	82.8%
<u><i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i></u>	26	15.9%
<u><i>Klebsiella pneumoniae complex</i></u>	1	0.6%
Geen antwoord ¹	1	

¹ Het is opvallend dat voor de stalen M/11719, M/11720 en M/11721 één of meerdere laboratoria het antwoord op de identificatie opengelaten hebben. Gezien deze laboratoria wel het AB bepaald en de vragen hierover beantwoord hebben, vermoeden wij dat het een vergetelheid betreft bij het invullen van de identificaties (omwille van de uitzonderlijke aandacht die aan het AB besteed werd).

3.2 Cultuur M/11720 *Klebsiella pneumoniae* (bronchusaspiraats)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Stam geïsoleerd uit een bronchusaspiraats van een 63-jarige patiënte, lijdend aan COPD, die sinds 2 weken gehospitaliseerd is wegens een acute exacerbatie. Gramkleuring toont de aanwezigheid van ++ polynucleairen (10-25/veld), zeldzame (<10) epitheelcellen en enkele Gram-negatieve bacillen. Identificatie tot op het speciesniveau is vereist. "

<u><i>Klebsiella pneumoniae</i></u>	136	83.4%
<u><i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i></u>	25	15.3%
<u><i>Klebsiella pneumoniae complex</i></u>	1	0.6%
Geen antwoord ¹	1	

¹ Het is opvallend dat voor de stalen M/11719, M/11720 en M/11721 één of meerdere laboratoria het antwoord op de identificatie opengelaten hebben. Gezien deze laboratoria wel het AB bepaald en de vragen hierover beantwoord hebben, vermoeden wij dat het een vergetelheid betreft bij het invullen van de identificaties (omwille van de uitzonderlijke aandacht die aan het AB besteed werd).

3.3 Cultuur M/11721 *Klebsiella pneumoniae* (urine)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: “Stam geïsoleerd uit de urine van een 58-jarige patiënt die in een daghospitaal gevolgd wordt voor chemotherapie van een Non-Hodgkin lymfoom. Het urinesediment toont de aanwezigheid van 120 WBC/µl (10-20 WBC/ veld) en een groot aantal bacteriën. Identificatie tot op het speciesniveau is vereist.”

<u><i>Klebsiella pneumoniae</i></u>	133	81.6%
<u><i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i></u>	25	15.3%
<u><i>Klebsiella pneumoniae complex</i></u>	1	0.6%
<i>Raoultella terrigena</i>	1	
Geen antwoord ¹	3	

¹ Het is opvallend dat voor de stalen M/11719, M/11720 en M/11721 één of meerdere laboratoria het antwoord op de identificatie opengelaten hebben. Gezien deze laboratoria wel het AB bepaald en de vragen hierover beantwoord hebben, vermoeden wij dat het een vergetelheid betreft bij het invullen van de identificaties (omwille van de uitzonderlijke aandacht die aan het AB besteed werd).

3.4 Cultuur M/11726 *Propionibacterium acnes* (revisie van schouderprothese)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Staal afkomstig van een revisie van een schouderprothese wegens chronische pijn. Negatieve inflammatieparameters. Gramkleuring van het weefselfragment: polynucleairen ++, geen bacteriën. Identificatie tot op het speciesniveau is vereist."

<i>Propionibacterium acnes</i>	148	90.8%
<i>Propionibacterium avidum</i>	1	
<i>Propionibacterium granulosum</i>	1	
<i>Propionibacterium species</i>	4	
<i>Corynebacterium matruchotii</i>	1	
<i>Corynebacterium propinquum</i>	1	
<i>Corynebacterium species</i>	1	
<i>Granulicatella elegans</i>	1	
<i>Streptococcus mitis/oralis</i> groep	1	
Afwezigheid van pathogenen	1	
Geen groei	3	

Enkele laboratoria voorzagen hun antwoord *Propionibacterium acnes* van de opmerking dat deze kiem tot de commensale huidflora behoort en dat er op basis van de kliniek en de evolutie moet nagegaan worden of de kiem in dit geval als contaminant dan wel als verwekker van de infectie beschouwd dient te worden.

IV. Antibioogram

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

Het type antibioogram werd opgesteld op basis van de resultaten van het referentiecentrum.

Alle 163 laboratoria die aan de enquête deelname, hebben resultaten ingestuurd voor de antibiogrammen.

4.1. M/11719 *Klebsiella pneumoniae*

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 tabel 4.1.1. het meest resistente resultaat weer te geven, tenzij de laboratoria anders aangaven.

Een aantal laboratoria gaven een opmerking bij dit staal (om de leesbaarheid te verhogen werden gelijkaardige antwoorden gegroepeerd):

- 6 labo's vermelden aanwezigheid/vermoeden van een metallo- β -lactamase, type VIM (enkele laboratoria vermeldden de door hen uitgevoerde testen)
- 29 labo's vermelden aanwezigheid/vermoeden van een metallo- β -lactamase (MBL)/carbapenemase klasse B (enkele laboratoria vermeldden de door hen uitgevoerde testen)
- 27 labo's vermelden aanwezigheid/vermoeden van een carbapenemase (enkele laboratoria vermeldden de door hen uitgevoerde testen)
- 1 labo vermeldt MBL+, ESBL -
- 1 labo vermeldt carbapenemase +, ESBL -
- 2 labo's vermelden MBL+, ESBL +
- 1 labo vermeldt ESBL -, MBL+, vermoeden KPC
- 4 labo's vermelden carbapenemase+, ESBL +
- 2 labo's vermelden ESBL +
- 1 labo vermeldt: "Onmogelijk om via fenotypische testen de aanwezigheid van een ESBL of high-level cefalosporinase te detecteren. De stammen worden naar het referentiecentrum verstuurd voor detectie van 1) carbapenemasen 2) ESBL"
- 1 labo vermeldt vermoeden van KPC
- 1 labo vermeldt "genta S, tige I, coli R, azt R, Hodge test +, erta R"

Tabel 4.1.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*)

<i>Antibioticum</i>	<i>Verwachte resultaat</i>	<i>Totaal</i>	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>	<i>*</i>
Ampicilline	R	161	-	-	161	-
Amoxicilline ¹	R	1	-	-	1	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	R	163	-	-	163	-
Cefuroxime	R	160	-	-	160	-
Ceftazidime	R	162	-	-	161	1 ²
Piperacilline-tazobactam	R	155	-	-	155	-
Meropenem	R	154	-	-	154 ³	-
Imipenem ⁴	R	5	-	-	5	-
Ertapenem ⁵	R	2	-	-	2	-
Levofloxacin	R	92	-	-	91	1 ⁶
Ofloxacin ⁷	R	1	-	-	1	-
Ciprofloxacin	R	157	-	-	157	-
Amikacin	R	151	3	14	134	-
Gentamicine ⁸		3	3	-	-	-

¹ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor amoxicilline i.p.v. ampicilline.

² Eén laboratorium vermeldde wel de MIC-waarde bekomen met de Vitek 2 compact (≥ 64 $\mu\text{g/mL}$) voor ceftazidime maar niet de interpretatie hiervan.

³ Eén laboratorium gaf het antwoord "R" maar voorzag dit van de opmerking: "Carbapenemase +: stam doorgestuurd naar referentielabo voor bevestiging carbapenemase; meropenem wordt normaal niet doorgegeven"

⁴ Vijf laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor imipenem i.p.v. meropenem.

⁵ Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor ertapenem i.p.v. meropenem.

⁶ Eén laboratorium vermeldde wel de MIC-waarde bekomen met de Vitek 2 compact (≥ 8 $\mu\text{g/mL}$) voor levofloxacin maar niet de interpretatie hiervan.

⁷ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor ofloxacin i.p.v. levofloxacin.

⁸ Drie laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor gentamicine i.p.v. amikacin.

Het in de tabellen 4.1.2 tot en met 4.1.11 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 Adagio, Osiris of Sirscan gebruikt hebben om de diameters van de papieren schijfjes af te lezen vindt u in tabellen 4.1.9., 4.1.10 en 4.1.11c.

Tabel 4.1.2. Bekomen diameters met de papieren schijfjes voor staal M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	16 (18)	10	6	6 – 7	-	-	18
Amoxicilline-clavulaanzuur	19 (20)	20+10	6	5 – 10	-	-	20
Cefuroxime	17 (17)	30	6	6 – 7	-	-	17
Ceftazidime	14 (22)	30	6	6 – 7	-	-	22
Piperacilline-tazobactam	11 (17)	100 + 10	6	6 – 11	-	-	17
Meropenem	18 (20) ¹	10	6	6 -9	-	-	20
Imipenem	2 (3) ²	10	9.5	6 – 13	-	-	3
Levofloxacin	6 (7)	5	7	6 – 7	-	-	7
Ciprofloxacin	18 (19)	5	6	5 – 7	-	-	19
Amikacine	16 (17)	30	13	6 – 15	-	2	15

¹ Tevens antwoordde één laboratorium een diameter ≤6 mm.

² Tevens antwoordde één laboratorium een diameter van 0 mm.

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. Voor de klassieke ladingen zijn de berekeningen van mediaan, minimum en maximum echter niet uitgevoerd omwille van het beperkte aantal deelnemers (N < 6). De resultaten van de laboratoria die de Sirscan gebruikt hebben om de diameters van deze schijfjes af te lezen vindt u in tabellen 4.1.11 a en b.

Tabel 4.1.3.a. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (klassieke Neosensitabs ladingen) voor staal M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibioticum	Aantal gebruikers	Resultaat		
		S	I	R
Ampicilline	3	-	-	3
Amoxicilline-clavulaanzuur	4	-	-	4
Cefuroxime	4	-	-	4
Ceftazidime	4	-	-	4
Piperacilline-tazobactam	2	-	-	2
Meropenem	5	-	-	5
Imipenem	1	-	-	1
Levofloxacin	1	-	-	1
Ofloxacin	1	-	-	1
Ciprofloxacin	3	-	-	3
Amikacine	5	1	1	3

Tabel 4.1.3.b. Bekomen resultaten met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)</i>	<i>Lading (µg/schijfje)</i>	<i>Mediane diameter</i>	<i>Grenswaarden diameter</i>	<i>Resultaat (Totaal aantal gebruikers)</i>		
					<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	10 (10)	10	9	9 – 10	-	-	10
Amoxicilline	- (1)	-	-	-	-	-	1
Amoxicilline-clavulaanzuur	11 (12)	20 + 10	11	9 – 18	-	-	12
Cefuroxime	10 (10)	30	9	9 – 10	-	-	10
Ceftazidime	7 (11)	30	9	9 – 10	-	-	11
Piperacilline-tazobactam	11 (12)	100 + 10	11	9 – 12	-	-	11
Meropenem	11 (12)	10	10	9 – 11	-	-	12
Levofloxacin	4 (4)	5	9	9 – 10	-	-	4
Ciprofloxacin	9 (10)	5	10	9 – 10	-	-	10
Amikacin	8 (10)	30	12	9 – 13	-	1	9
Gentamicin	1 (1)	10	17	-	-	-	1

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/11719 (*Klebsiella pneumoniae*)

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal laboratoria</i>	<i>Resultaat</i>	<i>MIC-waarde (mg/L)</i>
Ampicilline	2	2 x R	2 x ≥256 mg/L
Amoxicilline-clavulaanzuur	3	3 x R	64 mg/L; 2 x ≥256 mg/L
Cefuroxime	1	1 x R	≥256 mg/L
Ceftazidime	3	3 x R	3 x ≥256 mg/L
Piperacilline-tazobactam	4	4 x R	4 x ≥256 mg/L
Meropenem	16	16 x R	16 x ≥32 mg/L
Imipenem	1	1 x R	>32 mg/L
Ciprofloxacin	3	3 x R	3 x ≥32 mg/L
Amikacin	3	3 x R	2 x 64 mg/L; 96 mg/L

Vijf laboratoria gebruikten de MICE-test voor de bepaling van de gevoeligheid voor meropenem en bekwamen het resultaat “R” met de MIC-waarde: ≥32 mg/L.

Vijf laboratoria gebruikten de MIC test Strip voor de bepaling van de gevoeligheid voor meropenem en bekwamen het resultaat “R” met de MIC-waarde: ≥32 mg/L; twee laboratoria gebruikten deze test voor de bepaling van de gevoeligheid voor ertapenem en bekwamen het resultaat “R” met de MIC-waarde: ≥32 mg/L

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

Tabel 4.1.5 Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

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	*		
Ampicilline	-	-	66	≥32	66 (66)	-	-	32	-	≥32	31 (32)
Amoxicilline-clavulaanzuur	-	-	66	≥32	66 (66)	-	-	32	-	≥32	31 (32)
Cefuroxime	-	-	66	≥64	66 (66)	-	-	32	-	≥64	31 (32)
Ceftazidime	-	-	66	≥64	66 (66)	-	-	31	1 ¹	≥64	31 (32)
Piperacilline-tazobactam	-	-	65	≥128	64 (65)	-	-	29	-	≥128	28 (29)
Meropenem	-	-	60	≥16	59 (60)	-	-	28 ²	-	≥16	27 (28)
Levofloxacin	-	-	36	≥8	36 (36)	-	-	21	1 ³	≥8	21 (22)
Ciprofloxacine	-	-	65	≥4	65 (65)	-	-	32	-	≥4	31 (32)
Amikacine	1	6	55	≥64	52 (62)	-	1	26	-	≥64	23 (27)
Gentamicine	1	-	1	2 en 4	1 en 1 (2)	1	-	-	-	≤1	1 (1)

¹ Eén laboratorium vermeldde wel de MIC-waarde bekomen met de Vitek 2 compact (≥64 µg/mL) voor ceftazidime maar niet de interpretatie hiervan.

² Eén laboratorium gaf het antwoord "R" maar voorzag dit van de opmerking: "Carbapenemase +: stam doorgestuurd naar referentielabo voor bevestiging carbapenemase; meropenem wordt normaal niet doorgegeven"

³ Eén laboratorium vermeldde wel de MIC-waarde bekomen met de Vitek 2 compact (≥8 µg/mL) voor levofloxacin maar niet de interpretatie hiervan.

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 >256 mg/L met Vitek 2
- voor meropenem vond 1 deelnemer een MIC >32 mg/L met Vitek 2
- voor amikacine vonden met Vitek 2, acht deelnemers een MIC van 32 mg/L, één deelnemer een MIC van 16 mg/L en één deelnemer een MIC van 2 mg/L; met Vitek 2 compact vonden 3 deelnemers een MIC van 32 mg/L

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/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Resultaat</i>		
	S	I	R
Ampicilline	-	-	2
Amoxicilline-clavulaanzuur	-	-	2
Cefuroxime	-	-	2
Ceftazidime	-	-	2
Piperacilline-tazobactam	-	-	2
Meropenem	-	-	2
Levofloxacin	-	-	3
Ciprofloxacin	-	-	2
Amikacin	-	-	2

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.1.7.

Tabel 4.1.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*)

<i>Antibioticum</i>	<i>Resultaat</i>			<i>Meest vermelde MIC waarde (mg/l)</i>	<i>Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)</i>
	S	I	R		
Ampicilline	-	-	16	>8	16 (16)
Amoxicilline-clavulaanzuur	-	-	16	>8/2	16 (16)
Cefuroxime	-	-	16	>8	16 (16)
Ceftazidime	-	-	16	>8	16 (16)
Piperacilline-tazobactam	-	-	16	>16/4	16 (16)
Meropenem	-	-	14	>8	13 (14)
Levofloxacin	-	-	12	>2	12 (12)
Ciprofloxacin	-	-	16	>1	16 (16)
Amikacin	-	-	16	>16	16 (16)

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. Voor meropenem vond 1 laboratorium een MIC >32 mg/L

De resultaten bekomen met de Microscan worden weergegeven in tabel 4.1.8.

Tabel 4.1.8. Resultaten bekomen met de Microscan voor M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Resultaat</i>		
	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	-	-	3
Amoxicilline-clavulaanzuur	-	-	3
Cefuroxime	-	-	3
Ceftazidime	-	-	3
Piperacilline-tazobactam	-	-	3
Meropenem	-	-	2
Levofloxacin	-	-	2
Ciprofloxacin	-	-	3
Amikacin	-	1	2

De resultaten bekomen met de toestellen Osiris, Adagio en Sirscan worden weergegeven in tabellen 4.1.9., 4.1.10. en 4.1.11 a, b en c. De berekeningen van mediaan, minimum en maximum zijn voor het merendeel van deze bepalingen echter niet uitgevoerd omwille van het beperkte aantal deelnemers (N < 6).

Tabel 4.1.9. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>		
		<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	3	-	-	3
Amoxicilline-clavulaanzuur	3	-	-	3
Cefuroxime	2	-	-	2
Ceftazidime	3	-	-	3
Piperacilline-tazobactam	3	-	-	3
Meropenem	2	-	-	2
Levofloxacin	3	-	-	3
Amikacin	2	-	-	2
Ampicilline	3	-	-	3

Tabel 4.1.10. Resultaten bekomen met de Adagio voor staal M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>		
		<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	5	-	-	5
Amoxicilline-clavulaanzuur	5	-	-	5
Cefuroxime	5	-	-	5
Ceftazidime	5	-	-	5
Piperacilline-tazobactam	5	-	-	5
Meropenem	5	-	-	5
Levofloxacin	3	-	-	3
Ciprofloxacin	3	-	-	3
Amikacin	5	-	1	4

Tabel 4.1.11.a. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (klassieke Neosensitabs ladingen) voor staal M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>		
		<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	2	-	-	2
Amoxicilline-clavulaanzuur	2	-	-	2
Cefuroxime	2	-	-	2
Ceftazidime	2	-	-	2
Piperacilline-tazobactam	2	-	-	2
Meropenem	3	-	-	3
Ertapenem	2	-	-	2
Levofloxacin	2	-	-	2
Amikacin	2	2	-	-

Tabel 4.1.11.b. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>		
		<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	5	-	-	5
Amoxicilline-clavulaanzuur	5	-	-	5
Cefuroxime	5	-	-	5
Ceftazidime	5	-	-	5
Piperacilline-tazobactam	5	-	-	5
Meropenem	4	-	-	4
Levofloxacin	1	-	-	1
Ciprofloxacin	4	-	-	4
Amikacin	5	-	2	3

Tabel 4.1.11.c. Resultaten bekomen met de Sirscan met de papieren schijfjes voor staal M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)</i>	<i>Lading (µg/schijfje)</i>	<i>Mediane diameter</i>	<i>Grenswaar den diameter</i>	<i>Resultaat (Totaal aantal gebruikers)</i>		
					<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	7 (8)	10	6	6 – 6	-	-	8
Amoxicilline-clavulaanzuur	7 (8)	20+10	6	6 – 6	-	-	8
Cefuroxime	7 (8)	30	6	6 – 6	-	-	8
Ceftazidime	4 (8)	30	6	6 – 6	-	-	8
Piperacilline-tazobactam	4 (8)	100 + 10	6	6 – 6	-	-	8
Meropenem	7 (7)	10	6	6 – 6	-	-	7
Levofloxacin	3 (3)	5	7	6 – 6	-	-	3
Ciprofloxacin	7 (8)	5	6	6 – 6	-	-	8
Amikacine	7 (8)	30	12	9 – 14	-	1	7

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:

- amoxicilline-clavulaanzuur:
 - o I→R
 - Neosensitabs nieuwe ladingen: 1 labo
- amikacine:
 - o S→I
 - Vitek 2: 1 labo
 - o I→R
 - Vitek 2: 1 labo
 - Vitek 2 compact: 1 labo
 - Sirscan papieren schijfjes: 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. Vijftien laboratoria hebben het antwoord op de vraag open gelaten; mogelijk wilden een aantal onder hen op deze wijze aangeven dat zij geen bijkomende AB zouden voorstellen om te testen.

Vijftien (andere) laboratoria vermeldden expliciet dat zij geen bijkomende AB zouden voorstellen; een aantal onder hen gaven hierbij de opmerking dat het om een screeningsstaal en dus geen echte infectie ging.

Een aantal laboratoria die wel AB voorgesteld hebben, hebben eveneens vermeld dat een behandeling niet aangewezen/noodzakelijk is gezien het geen infectie maar een dragerschap betreft.

Enkele laboratoria vermeldden dat er een Hodge-test dient uitgevoerd te worden.

Tabel 4.1.12. Bijkomende antibiotica gesuggereerd door de laboratoria om te testen voor staal M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

	Voorgesteld antibioticum	Aantal labo's
1 AB	Tigecycline	8
	Colistine	6
	Meropenem ¹	2
	Aztreonam	1
	Ertapenem	1
	Gentamicine	1
	2 AB	Colistine – Tigecycline
Aztreonam – Tigecycline		4
Aztreonam – Colistine		2
Gentamicine – Tetracyclines		2
Polymyxines – Tigecycline		2
Andere aminoside – synergie vancomycine/cefalosporines		1
Cefalosporines 3 ^e /4 ^e generatie – Sulfamides		1
Colistine – Moxifloxacin		1
Colistine – Polymyxine		1
Gentamicine – Tigecycline		1
Tigecycline - Trimethoprim/Sulfamethoxazole		1
3 AB		Aztreonam – Colistine – Tigecycline
	Colistine – Fosfomycine – Tigecycline	4
	Aztreonam – Gentamicine – Tigecycline	2
	Colistine – Temocilline – Tigecycline	2
	Aztreonam – Colistine – Polymyxine B	1
	Colistine – Ertapenem – Temocilline	1
	Colistine – Gentamicine – Tigecycline	1
	Colistine – Gentamicine – Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1
	Colistine – Rifampicine – Tigecycline	1
	Colistine – Thiamfenicol – Tigecycline	1
	Colistine – Tigecycline – Tobramycine	1
	Colistine – Tigecycline – Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1
4 AB	Aztreonam – Colistine – Gentamicine – Tigecycline	8
	Aztreonam – Colistine – Temocilline – Tigecycline	4
	Aztreonam – Colistine – Gentamicine – Temocilline	1
	Aztreonam – Doxycycline – Gentamicine – Tigecycline	1
	Aztreonam – Ertapenem – Gentamicine – Tigecycline	1
	Colistine – Fosfomycine – Gentamicine – Tigecycline	1
	Fosfomycine – Polymyxines – Temocilline – Tigecycline	1
	Colistine – Tigecycline – (eventueel Chloramfenicol – Fosfomycine)	1
	5 AB	Aztreonam – Colistine – Fosfomycine – Gentamicine - Tigecycline
Aztreonam – Colistine – Fosfomycine – Rifampicine - Tigecycline		1
Aztreonam – Colistine – Gentamicine – Temocilline – Tigecycline		1
Aztreonam – Colistine – Gentamicine – Tigecycline -		1

¹ Eén laboratorium (dat meropenem getest heeft met schijfjes en Vitek 2, telkens resultaat R) vermeldde dat het hier confirmatie met de E-test betreft

Een aantal laboratoria vermeldden dat zij (sommige van) deze antibiotica getest hebben

- Colistine: 8 labo's: 8 x R
- Tigecycline: 6 labo's: 3 x S, 3 x I
- Aztreonam: 2 labo's: 2 x S
- Ertapenem: 2 labo's: 2 x R
- Gentamicine: 2 labo's: 2 x S
- Temocilline: 1 labo: R
- Trimethoprim/Sulfamethoxazole: 1 labo: R

156 laboratoria zouden deze stam in routine naar een referentielaboratorium sturen voor analyse en bevestiging van de resistentiemechanismen.

4.2. Cultuur M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*)

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 tabel 4.2.1. het meest resistente resultaat weer te geven.

Een aantal laboratoria gaven een opmerking bij dit staal (om de leesbaarheid te verhogen werden gelijkaardige antwoorden gegroepeerd):

- 35 labo's vermelden aanwezigheid/vermoeden van een KPC/carbapenemase klasse A (enkele laboratoria vermeldden de door hen uitgevoerde testen)
- 27 labo's vermelden aanwezigheid/vermoeden van een carbapenemase (enkele laboratoria vermeldden de door hen uitgevoerde testen)
- 1 labo vermeldt KPC+, ESBL +
- 4 labo's vermelden carbapenemase +, ESBL -
- 1 labo vermeldt ESBL -, MBL-, vermoeden KPC
- 2 labo's vermelden ESBL +
- 1 labo vermeldt MBL -, ESBL -
- 1 labo vermeldt MBL -
- 1 labo vermeldt: "Onmogelijk om via fenotypische testen de aanwezigheid van een ESBL of high-level cefalosporinase te detecteren. De stammen worden naar het referentiecentrum verstuurd voor detectie van 1) carbapenemase 2) ESBL"
- 1 labo vermeldt "genta S, tige R, coli S, azt R, Hodge test +, erta R (tige en coli niet aangewezen bij respiratoire infectie)"

Tabel 4.2.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Ampicilline	R	161	-	-	161	-
Amoxicilline ¹	R	1	-	-	1	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	R	163	-	-	163	-
Cefuroxime	R	160	-	-	160	-
Ceftazidime	R	162	-	-	161	1 ²
Piperacilline-tazobactam	R	154	-	-	154	-
Meropenem	R	155	-	-	155 ³	-
Imipenem ⁴	R	4	-	-	4	-
Ertapenem ⁵	R	2	-	-	2	-
Levofloxacin	R	93	-	-	92	1 ⁶
Ofloxacin ⁷	R	1	-	-	1	-
Ciprofloxacin	R	156	-	-	156	-
Amikacin	R	151	2	6	143	-
Gentamicine ⁸	R	4	4	-	-	-

¹ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor amoxicilline i.p.v. ampicilline.

² Eén laboratorium vermeldde wel de MIC-waarde bekomen met de Vitek 2 compact (≥ 64 µg/mL) voor ceftazidime maar niet de interpretatie hiervan.

³ Eén laboratorium gaf het antwoord "R" maar voorzag dit van de opmerking: "Carbapenemase +: stam doorgestuurd naar referentielabo voor bevestiging carbapenemase; meropenem wordt normaal niet doorgegeven"

⁴ Vier laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor imipenem i.p.v. meropenem.

- ⁵ Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor ertapenem i.p.v. meropenem.
⁶ Eén laboratorium vermeldde wel de MIC-waarde bekomen met de Vitek 2 compact (≥ 8 $\mu\text{g/mL}$) voor levofloxacin maar niet de interpretatie hiervan.
⁷ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor ofloxacin i.p.v. levofloxacin.
⁸ Vier laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor gentamicine i.p.v. amikacine

Het in de tabellen 4.2.2. tot en met 4.2.11. 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 Adagio, Osiris of Sirscan gebruikt hebben om de diameters van de papieren schijfjes af te lezen vindt u in tabellen 4.2.9., 4.2.10 en 4.2.11c.

Tabel 4.2.2. Bekomen diameters met de papieren schijfjes voor staal M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ($\mu\text{g/schijfje}$)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	15 (17)	10	6	6 – 7	-	-	17
Amoxicilline-clavulaanzuur	18 (19)	20+10	6	5 – 7	-	-	19
Cefuroxime	16 (16)	30	6	6 – 7	-	-	16
Ceftazidime	14 (21)	30	6	6 – 6	-	-	21
Piperacilline-tazobactam	10 (15)	100 + 10	6	6 – 7	-	-	15
Meropenem	17 (20) ¹	10	6	6 -10	-	-	20
Imipenem	1 (2)	10	15	-	-	-	2
Levofloxacin	6 (7)	5	7	6 – 8	-	-	7
Ciprofloxacin	16 (17)	5	6	5 – 7	-	-	17
Amikacine	15 (16)	30	13	10 – 20	1	1	14

¹ Tevens antwoordde één laboratorium een diameter ≤ 6 mm en één laboratorium "15+6".

Zoals in voorgaande rapporten vermeldden wij voor de Neosensitabs schijfjes de schijfjes met Neosensitabs ladingen ("old") en met CLSI ladingen ("new") afzonderlijk. U vindt de resultaten in tabellen 4.2.3. a en b. Voor de klassieke ladingen zijn de berekeningen van mediaan, minimum en maximum echter niet uitgevoerd omwille van het beperkte aantal deelnemers (N < 6). De resultaten van de laboratoria die de Sirscan gebruikt hebben om de diameters van deze schijfjes af te lezen vindt u in tabellen 4.2.11 a en b.

Tabel 4.2.3.a. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (Neosensitabs ladingen) voor staal M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>		
		<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	2	-	-	2
Amoxicilline-clavulaanzuur	3	-	-	3
Cefuroxime	3	-	-	3
Ceftazidime	3	-	-	3
Piperacilline-tazobactam	2	-	-	2
Meropenem	4	-	-	4
Imipenem	1	-	-	1
Levofloxacin	1	-	-	1
Ofloxacin	1	-	-	1
Ciprofloxacin	2	-	-	2
Amikacin	4	-	-	4

Tabel 4.2.3.b. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (CLSI ladingen) voor staal M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)</i>	<i>Lading (µg/schijfje)</i>	<i>Mediane diameter</i>	<i>Grenswaarden diameter</i>	<i>Resultaat (Totaal aantal gebruikers)</i>		
					<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	10 (10)	10	9	9 – 10	-	-	10
Amoxicilline	- (1)	-	-	-	-	-	1
Amoxicilline-clavulaanzuur	11 (12)	20 + 10	11	9 – 18	-	-	12
Cefuroxime	10 (10)	30	9	9 – 10	-	-	10
Ceftazidime	7 (11)	30	9	9 – 10	-	-	11
Piperacilline-tazobactam	7 (11)	100 + 10	9	9 – 10	-	-	11
Meropenem	12 (13)	10	10	9 – 11	-	-	13
Levofloxacin	4 (4)	5	9	9 – 10	-	-	4
Ciprofloxacin	9 (10)	5	10	9 – 10	-	-	10
Amikacin	9 (10)	30	12	9 – 13	-	1	9
Gentamicine	1 (1)	10	18	-	-	-	1

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/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal laboratoria</i>	<i>Resultaat</i>	<i>MIC-waarde (mg/L)</i>
Ampicilline	2	2 x R	2 x ≥ 256 mg/L
Amoxicilline-clavulaanzuur	3	3 x R	3 x ≥ 256 mg/L
Cefuroxime	1	1 x R	≥ 256 mg/L
Ceftazidime	3	3 x R	3 x ≥ 256 mg/L
Piperacilline-tazobactam	6	6 x R	6 x ≥ 256 mg/L
Meropenem	18	18 x R	18 x ≥ 32 mg/L
Imipenem	1	1 x R	> 32 mg/L
Ciprofloxacine	3	3 x R	3 x ≥ 32 mg/L
Amikacine	2	1 x R 1 x S	64 mg/L 2 mg/L

Vijf laboratoria gebruikten de MICE-test: voor de bepaling van de gevoeligheid voor meropenem en bekwamen het resultaat "R" met de MIC-waarde: ≥ 32 mg/L.

Zes laboratoria gebruikten de MIC test Strip voor de bepaling van de gevoeligheid voor meropenem en bekwamen het resultaat "R" met de MIC-waarde: ≥ 32 mg/L; twee laboratoria gebruikten deze test voor de bepaling van de gevoeligheid voor ertapenem en bekwamen het resultaat "R" met de MIC-waarde: ≥ 32 mg/L

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/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

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	*		
Ampicilline	-	-	67	≥32	67 (67)	-	-	32	-	≥32	31 (32)
Amoxicilline-clavulaanzuur	-	-	67	≥32	67 (67)	-	-	32	-	≥32	31 (32)
Cefuroxime	-	-	67	≥64	67 (67)	-	-	32	-	≥64	31 (32)
Ceftazidime	-	-	67	≥64	67 (67)	-	-	31	1 ¹	≥64	31 (32)
Piperacilline-tazobactam	-	-	64	≥128	64 (64)	-	-	29	-	≥128	28 (29)
Meropenem	-	-	60	≥16	60 (60)	-	-	28 ²	-	≥16	27 (28)
Levofloxacin	-	-	37	≥8	37 (37)	-	-	21	1 ³	≥8	21 (22)
Ciprofloxacine	-	-	66	≥4	66 (66)	-	-	32	-	≥4	31 (32)
Amikacine	2	-	60	≥64	60 (62)	-	-	28	-	≥64	27 (28)
Gentamicine	2	-	-	≤1 en 4	1 en 1 (2)	1	-	-	-	2	1 (1)

¹ Eén laboratorium vermeldde wel de MIC-waarde bekomen met de Vitek 2 compact (≥64 µg/mL) voor ceftazidime maar niet de interpretatie hiervan.

² Eén laboratorium gaf het antwoord "R" maar voorzag dit van de opmerking: "Carbapenemase +: stam doorgestuurd naar referentielabo voor bevestiging carbapenemase; meropenem wordt normaal niet doorgegeven"

³ Eén laboratorium vermeldde wel de MIC-waarde bekomen met de Vitek 2 compact (≥8 µg/mL) voor levofloxacin maar niet de interpretatie hiervan.

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 amikacine vond één deelnemer een MIC ≤1 mg/L en één deelnemer een MIC ≤2 mg/L

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/11720 (*Klebsiella pneumoniae*)

<i>Antibioticum</i>	<i>Resultaat</i>		
	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	-	-	2
Amoxicilline-clavulaanzuur	-	-	2
Cefuroxime	-	-	2
Ceftazidime	-	-	2
Piperacilline-tazobactam	-	-	2
Meropenem	-	-	2
Levofloxacin	-	-	3
Ciprofloxacin	-	-	2
Amikacin	-	-	2

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.2.7.

Tabel 4.2. 7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*)

<i>Antibioticum</i>	<i>Resultaat</i>			<i>Meest vermelde MIC waarde (mg/l)</i>	<i>Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)</i>
	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>		
Ampicilline	-	-	16	>8	16 (16)
Amoxicilline-clavulaanzuur	-	-	16	>8/2	16 (16)
Cefuroxime	-	-	16	>8	16 (16)
Ceftazidime	-	-	16	>8	16 (16)
Piperacilline-tazobactam	-	-	16	>16/4	16 (16)
Meropenem	-	-	14	>8	13 (14)
Levofloxacin	-	-	12	>2	12 (12)
Ciprofloxacin	-	-	16	>1	16 (16)
Amikacin	-	-	16	>16	16 (16)

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. Voor meropenem vond 1 laboratorium een MIC van 32 mg/L.

De resultaten bekomen met de Microscan worden weergegeven in tabel 4.2.8.

Tabel 4.2.8. Resultaten bekomen met de Microscan voor M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Resultaat</i>		
	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	-	-	3
Amoxicilline-clavulaanzuur	-	-	3
Cefuroxime	-	-	3
Ceftazidime	-	-	3
Piperacilline-tazobactam	-	-	3
Meropenem	-	-	2
Levofloxacin	-	-	2
Ciprofloxacin	-	-	3
Amikacine	-	-	3

De resultaten bekomen met de toestellen Osiris, Adagio en Sirscan worden weergegeven in tabellen 4.2.9., 4.2.10. en 4.2.11 a, b en c. De berekeningen van mediaan, minimum en maximum zijn voor het merendeel van deze bepalingen echter niet uitgevoerd omwille van het beperkte aantal deelnemers (N < 6).

Tabel 4.2.9. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>		
		<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	3	-	-	3
Amoxicilline-clavulaanzuur	3	-	-	3
Cefuroxime	2	-	-	2
Ceftazidime	3	-	-	3
Piperacilline-tazobactam	3	-	-	3
Meropenem	2	-	-	2
Levofloxacin	3	-	-	3
Amikacine	2	-	-	2

Tabel 4.2.10. Resultaten bekomen met de Adagio voor staal M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers	Resultaat		
		S	I	R
Ampicilline	5	-	-	5
Amoxicilline- clavulaanzuur	5	-	-	5
Cefuroxime	5	-	-	5
Ceftazidime	5	-	-	5
Piperacilline- tazobactam	5	-	-	5
Meropenem	5	-	-	5
Levofloxacin	3	-	-	3
Ciprofloxacin	3	-	-	3
Amikacin	5	-	1	4

Tabel 4.2.11.a. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (klassieke ladingen) voor staal M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers	Resultaat		
		S	I	R
Ampicilline	2	-	-	2
Amoxicilline- clavulaanzuur	2	-	-	2
Cefuroxime	2	-	-	2
Ceftazidime	2	-	-	2
Piperacilline- tazobactam	2	-	-	2
Meropenem	3	-	-	3
Ertapenem	2	-	-	2
Levofloxacin	2	-	-	2
Amikacin	2	-	2	-

Tabel 4.2.11.b. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>		
		<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	5	-	-	5
Amoxicilline-clavulaanzuur	5	-	-	5
Cefuroxime	5	-	-	5
Ceftazidime	5	-	-	5
Piperacilline-tazobactam	5	-	-	5
Meropenem	4	-	-	4
Levofloxacin	1	-	-	1
Ciprofloxacin	4	-	-	4
Amikacin	5	-	1	4

Tabel 4.2.11.c. Resultaten bekomen met de Sirscan met de papieren schijfjes voor staal M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)</i>	<i>Lading (µg/schijfje)</i>	<i>Mediane diameter</i>	<i>Grenswaarden diameter</i>	<i>Resultaat (Totaal aantal gebruikers)</i>		
					<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	7 (8)	10	6	6 – 6	-	-	8
Amoxicilline-clavulaanzuur	7 (8)	20+10	6	6 – 6	-	-	8
Cefuroxime	7 (8)	30	6	6 – 6	-	-	8
Ceftazidime	4 (8)	30	6	6 – 6	-	-	8
Piperacilline-tazobactam	4 (8)	100 + 10	6	6 – 6	-	-	8
Meropenem	7 (7)	10	6	6 – 12	-	-	7
Levofloxacin	3 (3)	5	7	6 – 6	-	-	3
Ciprofloxacin	7 (8)	5	6	6 – 6	-	-	8
Amikacin	7 (8)	30	13	11 – 14	-	1	7

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. Elf laboratoria hebben het antwoord op de vraag open gelaten; mogelijk wilden een aantal onder hen op deze wijze aangeven dat zij geen bijkomende AB zouden voorstellen om te testen.

Één laboratorium vermeldde expliciet dat het geen bijkomende AB zouden voorstellen. Enkele laboratoria vermeldden dat er een Hodge-test dient uitgevoerd te worden.

Tabel 4.2.12. Bijkomende antibiotica gesuggereerd door de laboratoria om te testen voor staal M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

	Voorgesteld antibioticum	Aantal labo's
1 AB	Colistine	13
	Tigecycline	4
	Meropenem ¹	2
	Aztreonam	1
	Ertapenem	1
	Gentamicine	1
	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1
	Synergie vancomycine/cefalosporines	1
2 AB	Colistine – Tigecycline	48
	Tigecycline – Trimethoprim/Sulfamethoxazole	3
	Aztreonam – Colistine	2
	Colistine – Trimethoprim/Sulfamethoxazole	2
	Gentamicine – Tigecycline	2
	Colistine – Cefepime	1
	Colistine – Gentamicine	1
	Colistine – Moxifloxacin	1
	Colistine – Polymyxine	1
	Gentamicine – Tetracyclines	1
Polymyxines – Tigecycline	1	
3 AB	Aztreonam – Colistine – Tigecycline	14
	Colistine – Gentamicine – Tigecycline	7
	Colistine – Fosfomycine – Tigecycline	4
	Colistine – Temocilline – Tigecycline	3
	Colistine – Gentamicine – Trimethoprim/Sulfamethoxazole	2
	Colistine – Rifampicine - Tigecycline	2
	Aztreonam – Colistine – Gentamicine	1
	Aztreonam – Colistine – Polymyxine B	1
	Aztreonam – Colistine – Temocilline	1
	Aztreonam – Gentamicine – Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1
	Chloramfenicol - Cefalosporines 3 ^e /4 ^e generatie – Sulfamides	1
	Colistine – Ertapenem – Temocilline	1
	Colistine – Thiamfenicol – Tigecycline	1
	Colistine – Tigecycline – Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1
	Gentamicine – Tigecycline - Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1
4 AB	Aztreonam – Colistine – Gentamicine – Tigecycline	4
	Aztreonam – Colistine – Gentamicine – Temocilline	2
	Aztreonam – Colistine – Tigecycline - Trimethoprim/Sulfamethoxazole	2
	Aztreonam – Colistine – Temocilline – Tigecycline	1
	Aztreonam – Doxycycline - Gentamicine – Tigecycline	1
	Colistine – Ertapenem - Gentamicine – Tigecycline	1
	Colistine – Fosfomycine - Gentamicine – Tigecycline	1
	Colistine – Gentamicine - Tigecycline - Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1
	Colistine – Tigecycline – (eventueel Chloramfenicol – Fosfomycine)	1
	Fosfomycine – Polymyxines – Temocilline – Tigecycline	1
5 AB		

	Aztreonam – Colistine – Gentamicine – Tigecycline - Trimethoprim/Sulfamethoxazole	2
	Aztreonam – Colistine - Fosfomycine - Gentamicine – Tigecycline	1
	Aztreonam – Colistine - Fosfomycine - Rifampicine – Tigecycline	1
	Aztreonam – Colistine – Gentamicine – Temocilline – Tigecycline	1
	Aztreonam – Colistine – Temocilline – Tigecycline - Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1
6 AB	Aztreonam – Colistine - Fosfomycine – Gentamicine – Tigecycline - Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1

¹ Eén laboratorium (dat meropenem getest heeft met schijfjes en Vitek 2, telkens resultaat R) vermeldde dat het hier confirmatie met de E-test betreft

Een aantal laboratoria vermeldden dat zij (sommige van) deze antibiotica getest hebben:

- Colistine: 10 labo's: 10 x S
- Tigecycline: 6 labo's: 1 x S, 3 x I, 2 x R
- Gentamicine: 3 labo's: 3 x S
- Aztreonam: 2 labo's: 2 x R
- Ertapenem: 2 labo's: 2 x R
- Temocilline: 1 labo: R
- Trimethoprim/Sulfamethoxazole: 1 labo: S

157 laboratoria zouden deze stam in routine naar een referentielaboratorium sturen voor analyse en bevestiging van de resistentiemechanismen.

4.3. Cultuur M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*)

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 tabel 4.3.1. het meest resistente resultaat weer te geven.

Een aantal laboratoria gaven een opmerking bij dit staal (om de leesbaarheid te verhogen werden gelijkaardige antwoorden gegroepeerd):

- 24 labo's vermelden aanwezigheid/vermoeden van een carbapenemase, type OXA-48 (enkele laboratoria vermeldden de door hen uitgevoerde testen)
- 8 labo's vermelden aanwezigheid/vermoeden van een carbapenemase klasse B/carbapenemase type OXA (enkele laboratoria vermeldden de door hen uitgevoerde testen)
- 34 labo's vermelden aanwezigheid/vermoeden van een carbapenemase (enkele laboratoria vermeldden de door hen uitgevoerde testen)
- 1 labo vermeldt OXA-48 of ESBL
- 1 labo vermeldt ESBL en mogelijk carbapenemase
- 1 labo vermeldt OXA-48+, ESBL -
- 1 labo vermeldt mogelijk carbapenemase +, ESBL -
- 1 labo vermeldt ESBL -, MBL+, vermoeden KPC
- 1 labo vermeldt MBL-, carbapenemase mogelijk
- 1 labo vermeldt een vermindering van de gevoeligheid voor meropenem (MIC = 1): vermoedelijk mechanisme penicillinase resistent aan inhibitoren (PRI)
- 2 labo's vermelden MBL -
- 1 labo vermeldt ESBL -
- 1 labo vermeldt constitutieve resistentie, cefalosporinase C1, C2
- 1 labo vermeldt "genta S, tige I, coli S, azt S, Hodge test +, erta R"
- 1 labo vermeldt "Wij testen in routine nooit de gevraagde antibiotica, maar als ampicilline, cefalotine, co-trimoxazole en norfloxacin R zijn, sporen wij een ESBL op en een antibiogram met temocilline, gentamicine, imipenem en cefoxitine (vooral bij oudere personen of rusthuisbewoners)"

Tabel 4.3.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Verwachte resultaat</i>	<i>Totaal</i>	<i>S</i>	<i>S/I</i>	<i>I</i>	<i>I/R</i>	<i>R</i>	<i>*</i>
Ampicilline	R	161	-	-	-	-	161	-
Amoxicilline ¹	R	1	-	-	-	-	1	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	R	163	-	-	-	-	163	-
Cefuroxime	S	160	123 ²	1 ³	12	-	17	7 ⁴
Ceftazidime	S	160	143 ⁵	-	4	-	8	5 ⁶
Cefotaxime ⁷		1	-	-	-	-	-	1 ⁷
Meropenem	S	151	69 ⁸	-	32 ⁹	1	37 ¹⁰	12 ¹¹
Imipenem ¹²		4	3	-	1	-	-	-
Ertapenem ¹³		3	-	-	-	-	3	-
Levofloxacin	R	74	1	-	20	-	53	-
Ofloxacin ¹⁴		1	-	-	1	-	-	-
Ciprofloxacin	R	154	-	-	23	-	131	-
Norfloxacin ¹⁵		2	-	-	-	-	2	-
Co-trimoxazole	R	160	-	-	-	-	160	-
Nitrofurantoïne	R	143	1	-	3	-	139	-
Gentamicine	S	150	146	-	2	-	2	-
Amikacine ¹⁶		4	4	-	-	-	-	-

¹ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor amoxicilline i.p.v. ampicilline

² Twee laboratoria gaven een opmerking bij hun antwoord "S":

- Vermoeden carbapenemase: indien geconfirmeerd: cefuroxime en ceftazidime R
- OXA 48? Geen interpretatie voorgesteld (EUCAST of CLSI 2012) voor de cefalosporines. De mogelijkheid van een carbapenemase (te bevestigen) en de limiet MIC voor cefuroxime melden aan de clinicus

³ Eén laboratorium vermeldde S i.g.v. IV en I i.g.v. PO

⁴ Eén laboratorium vermeldde wel de met de Phoenix bekomen MIC (8 mg/l) maar gaf geen interpretatie. Zes andere laboratoria gaven een opmerking:

- twee laboratoria wachten op het resultaat van het referentiecentrum
- contacteer microbioloog voor bespreking (niet te vatten in S, I, R)
- Hodge test positief; temocilline R klasse D? OXA-48?; dit AB wordt niet gerapporteerd doch er wordt contact gezocht met de arts
- Hodgetest & doorsturen ter uitsluiting CPE (mero gevoeligheid gedaald en temo R). Resultaat afhankelijk van CPE
- CPE. Vitek 2 system past "alert" toe: "Verdacht voor carbapenemase. Confirmeren. Stam naar referentielabo sturen." Confirmatie + met modified Hodge test. Zou in antwoord naar de aanvrager schrijven om contact op te nemen met de klinisch bioloog ivm antibiotherapie aangezien men strictu sensu geen eenduidig antwoord S, I of R kan geven. Het gaat hier trouwens om een urineweginfectie.

⁵ Vijf laboratoria geven een opmerking bij hun antwoord "S":

- Twee laboratoria: "Indien CPE bevestigd wordt dan ceftazidime niet aan te raden als er ook ESBL of amp C aanwezig is"
- Vermoeden carbapenemase: indien geconfirmeerd: cefuroxime en ceftazidime R
- OXA 48? Geen interpretatie voorgesteld (EUCAST of CLSI 2012) voor de cefalosporines. De mogelijkheid van een carbapenemase (te bevestigen) en de limiet MIC voor cefuroxime melden aan de clinicus
- Vermoeden van carbapenemase, type OXA 48. De expertresultaten van ceftazidime en meropenem hangen af van de bevestiging van de aanwezigheid van een carbapenemase van type OXA-48. Als afwezig:→ceftazidime en meropenem gevoelig. Als aanwezig:→ceftazidime en meropenem intermediair gevoelig. Merk op: afwezigheid van CLSI guidelines voor de interpretatie van de cefalosporines (en carbapenems) in geval van aanwezigheid van een carbapenemase van type OXA 48.

⁶ Vijf laboratoria gaven een opmerking:

- Carbapenemase?: stam doorgestuurd naar referentielabo voor verdere bepaling carbapenem→verdacht MIC meropenem ≥1; meropenem wordt normaal niet doorgegeven naar de

- huisarts: hier geantwoord ivm carbapenemase. Ceftazidime ook niet (we hebben MICs vermeld voor statistieken)
- contacteer microbioloog voor bespreking (niet te vatten in S, I, R)
 - Hodge test pos; temocilline R klasse D? OXA-48?; dit AB wordt niet gerapporteerd doch er wordt contact gezocht met de arts
 - Hodgetest & doorsturen ter uitsluiting CPE (mero gevoeligheid gedaald en temo R). Resultaat afhankelijk van CPE
 - CPE. Vitek 2 system past "alert" toe: "Verdacht voor carbapenemase. Confirmeren. Stam naar referentielabo sturen." Confirmatie + met modified Hodge test. Zou in antwoord naar de aanvrager schrijven om contact op te nemen met de klinisch bioloog ivm antibiotherapie aangezien men strictu sensu geen eenduidig antwoord S, I of R kan geven. Het gaat hier trouwens om een urineweginfectie.
- 7 Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor cefotaxime i.p.v. ceftazidime en zou op het resultaat van het referentiecentrum wachten.
- 8 Vier laboratoria gaven een opmerking bij hun antwoord "S":
- CPE klasse D; CLSI 2009: meropenem 4 µg/mL:→S; CLSI 2012: meropenem 4 µg/mL:→R
 - Vitek AES: carbapenemase verdacht: →diskdiffusie: ertapenem: ø19; meropenem: ø22: →stam op te sturen naar reflabo
 - Klasse D CPE; Meropenem MIC = 4 µg/mL: CLSI 2009 = S; CLSI 2012 = R; onze vitek software gebruikt nog CLSI 2009
 - Zal niet geantwoord worden: resultaat afhankelijk van reflab. Advies EUCAST: alle stammen met MIC meropenem ≥1 mg/L en zone ø ≤23 mm. worden doorgestuurd voor uitsluiten carbapenemase
- 9 Eén laboratorium gaf een opmerking bij zijn antwoord "I": "PCR voor OXA-48 was positief: er wordt een opmerking op het rapport voorzien bij meropenem: Deze kiem produceert een carbapenemase en werd bevestigd door moleculaire technieken. Behandeling met meropenem alleen overwegen na advies van infectioloog of microbioloog. Als behandeling met meropenem noodzakelijk is, moet een hoge dosis (6 g/dag) gebruikt worden."
- 10 Vijf laboratoria gaven een opmerking bij hun antwoord "R":
- twee laboratoria: " Vitek 2 meet de MIC van meropenem aan 0,5 en verhoogt deze vervolgens 3 à 4 maal. – Wij interpreteren meropenem als R (als de carbapenemase bevestigd wordt) en wij geven de MIC door aan de clinici
 - Gerapporteerd resultaat meropenem = R in afwachting van resultaten referentielabo (carbapenemase?)
 - E-test toonde kleine doorgroeikolonies in het gebied boven 32 µg/mL = R
 - indien geconfirmeerd carbapenemase KPE +
- 11 Eén laboratorium vermeldde wel de met de Vitek 2 bekomen MIC (4 mg/l) maar gaf geen interpretatie. Elf andere laboratoria gaven een opmerking:
- twee laboratoria gaven wel de bekomen diameter met de papieren schijfjes (22 mm) of Neosensitabs (23 mm) maar vermeldden dat ze het staal zouden doorsturen om de meropenemgevoeligheid te antwoorden
 - Carbapenemase?: stam doorgestuurd naar referentielabo voor verdere bepaling carbapenem→verdacht MIC meropenem ≥1; meropenem wordt normaal niet doorgegeven naar de huisarts: hier geantwoord ivm carbapenemase. Ceftazidime ook niet (we hebben MICs vermeld voor statistieken)
 - verdacht voor CPE, type OXA
 - Meropenem: expertsysteem waarschuwt voor mogelijk CPE. Alle enterobacteriaceae met MIC meropenem ≥1 worden naar referentiecentrum gestuurd. Dit wordt in antwoord arts vermeld: "mogelijk CPE stam, doorgestuurd naar referentiecentrum". Volgens de laatste CLSI richtlijnen is meropenem MIC 4 R, volgens EUCAST is dit I. Vitek instellingen CLSI zijn gebaseerd op CLSI 2009. Rosco Neosensitabs new voor carbapenemase screen (2009): meropenem 23 (≤22), imipenem 21 (≤22), ertapenem 17 (≤22): besluit meropenem alleen detecteert eventueel CPE niet. Richtlijnen 2011 meropenem screen (≤23):→zou deze opgepikt worden.
 - contacteer microbioloog voor bespreking (niet te vatten in S, I, R)
 - Hodge test pos; temocilline R klasse D? OXA-48?; dit AB wordt niet gerapporteerd doch er wordt contact gezocht met de arts
 - Hodgetest & doorsturen ter uitsluiting CPE (mero gevoeligheid gedaald en temo R). Resultaat afhankelijk van CPE
 - CPE. Vitek 2 system past "alert" toe: "Verdacht voor carbapenemase. Confirmeren. Stam naar referentielabo sturen." Confirmatie + met modified Hodge test. Zou in antwoord naar de aanvrager schrijven om contact op te nemen met de klinisch bioloog ivm antibiotherapie aangezien men strictu sensu geen eenduidig antwoord S, I of R kan geven. Het gaat hier trouwens om een urineweginfectie.
 - screening breakpoint ≥0,5; zone ≤23 mm: CPE te bevestigen via PCR

- Vermoeden van carbapenemase, type OXA 48. De expertresultaten van ceftazidime en meropenem hangen af van de bevestiging van de aanwezigheid van een carbapenemase van type OXA-48. Als afwezig:→ceftazidime en meropenem gevoelig. Als aanwezig:→ceftazidime en meropenem intermediair gevoelig. Merk op: afwezigheid van: CLSI guidelines voor de interpretatie van de cefalosporines (en carbapenems) in geval van aanwezigheid van een carbapenemase van type OXA 48.
- ¹² Vier laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor imipenem i.p.v. meropenem.
- ¹³ Drie laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor ertapenem en meropenem.
- ¹⁴ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor ofloxacin i.p.v. levofloxacin.
- ¹⁵ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor norfloxacin i.p.v. levofloxacin en ciprofloxacine en één labo i.p.v. ciprofloxacine.
- ¹⁶ Vier laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor amikacin i.p.v. gentamicine.

Het in de tabellen 4.3.2. tot en met 4.3.12. 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 Adagio, Osiris of Sirscan gebruikt hebben om de diameters van de papieren schijfjes af te lezen vindt u in tabellen 4.3.10, 4.3.11 en 4.1.12c.

Tabel 4.3.2. Bekomen diameters met de papieren schijfjes voor staal M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ($\mu\text{g/schijfje}$)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Ampicilline	15 (17)	10	6	6 – 7	-	-	17	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	17 (18)	20 + 10	6	5 – 8	-	-	18	-
Cefuroxime	5 (15)	30	21	6 – 23	9	3	3	-
Ceftazidime	12 (18)	30	29	6 – 30	15	1	2	-
Meropenem	16 (17)	10	22	6 – 26	3	3	6	3 [†]
Imipenem	2 (2)	10	17	15 - 18	1	1	-	-
Levofloxacin	6 (7)	5	16	7 – 19	-	5	2	-
Ciprofloxacine	15 (17)	5	15	12 – 17	-	5	12	-
Co-trimoxazole	15 (17)	1.25 + 23.75	6	6 – 7	-	-	17	-
Nitrofurantoïne	14 (15)	300	12	8 -14	-	-	15	-
Gentamicine	13 (13)	17	20	17 – 35	13	-	-	-

[†] Drie laboratoria gaven een opmerking:

- één laboratorium gaf wel de bekomen diameter met de papieren schijfjes (22 mm) maar vermeldde dat ze het staal zouden doorsturen om de meropenemgevoeligheid te antwoorden
- screening breakpoint $\geq 0,5$; zone ≤ 23 mm: CPE te bevestigen via PCR
- Meropenem: expertsysteem waarschuwt voor mogelijk CPE. Alle enterobacteriaceae met MIC meropenem ≥ 1 worden naar referentiecentrum gestuurd. Dit wordt in antwoord arts vermeld: "mogelijk CPE stam, doorgestuurd naar referentiecentrum". Volgens de laatste CLSI richtlijnen is meropenem MIC 4 R, volgens EUCAST is dit I. Vitek instellingen CLSI zijn gebaseerd op CLSI 2009. Rosco Neosensitabs new voor carbapenemase screen (2009): meropenem 23 (≤ 22), imipenem 21 (≤ 22), ertapenem 17 (≤ 22): besluit meropenem alleen detecteert eventueel CPE niet. Richtlijnen 2011 meropenem screen (≤ 23):→zou deze opgepikt worden.

Zoals in voorgaande rapporten vermeldden wij voor de Neosensitabs schijfjes de schijfjes met Neosensitabs ladingen (“old”) en met CLSI ladingen (“new”) afzonderlijk. U vindt de resultaten in tabellen 4.3.3. 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 4.3.12 a en b.

Tabel 4.3.3.a. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (Neosensitabs ladingen) voor staal M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	S/I	I	R
Ampicilline	3 (3)	33	10	9 – 10	-	-	-	3
Amoxicilline-clavulaanzuur	4 (4)	30 + 15	10	7 – 12	-	-	-	4
Cefuroxime	4 (4)	60	23	20 – 25	1	1 ¹	2	-
Ceftazidime	2 (3)	30	30	28 – 32	3	-	-	-
Meropenem	6 (6)	10	23.5	22 – 25	5	-	-	1
Imipenem	1 (1)	10	17	-	1	-	-	-
Levofloxacin	3 (3)	5	16	14 – 17	-	-	2	1
Ofloxacin	1 (1)	5	15	-	-	-	1	-
Ciprofloxacin	3 (3)	10	15	15 – 18	-	-	1	2
Co-trimoxazole	1 (2)	1.25 +23.75	9	-	-	-	-	2
Nitrofurantoïne	- (3) ¹	-	-	-	-	-	-	3
Gentamicine	3 (4)	40	22	22 – 25	2	-	2	-

¹ Eén laboratorium vermeldde S i.g.v. IV en I i.g.v. PO

² De verschillende laboratoria melden het gebruik van verschillende ladingen.

Tabel 4. 3.3.b. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (CLSI ladingen) voor staal M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)</i>	<i>Lading (µg/schijfje)</i>	<i>Mediane diameter</i>	<i>Grenswaarden diameter</i>	<i>Resultaat (Totaal aantal gebruikers)</i>			
					<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>	<i>*</i>
Ampicilline	10 (10)	10	9	9 – 10	-	-	10	-
Amoxicilline	- (1)	-	-	-	-	-	1	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	11 (11)	20 + 10	9	9 – 10	-	-	12	-
Cefuroxime	10 (10)	30	21	18 – 32	8	1	1	-
Ceftazidime	7 (11)	30	27	26 – 32	11	-	-	-
Meropenem	11 (12)	10	21	21 – 24	5 ¹	3	3	1 ²
Levofloxacin	4 (4)	5	15	15 - 18	1	2	1	-
Ciprofloxacine	8 (9)	5	14	13 – 20	-	1	8	-
Norfloxacin	1 (1)	5	9	-	-	-	1	-
Co-trimoxazole	12 (13)	1.25 + 23.75	9	9 – 10	-	-	13	-
Nitrofurantoïne	8 (12)	300	14	12 – 18	1	1	10	-
Gentamicine	9 (9)	10	19	16 – 24	9	-	-	-

¹ Eén laboratorium gaf een opmerking bij zijn antwoord “S”: - Zal niet geantwoord worden: resultaat afhankelijk van reflab. Advies EUCAST: alle stammen met MIC meropenem ≥1 mg/L en zone ø ≤23 mm. worden doorgestuurd voor uitsluiten carbapenemase

² Eén laboratorium gaf een opmerking “verdacht voor CPE, type OXA”

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

Tabel 4.3.4. Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor staal M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal laboratoria</i>	<i>Resultaat</i>	<i>MIC-waarde (mg/L)</i>
Ampicilline	2	2 x R	2 x >256 mg/L
Amoxicilline-clavulaanzuur	2	2 x R	2 x >256 mg/L
Cefuroxime	1	1 x S	4 mg/L
Ceftazidime	3	3 x S	2 x 0.25 mg/L; 0.38 mg/L
Meropenem	25	9 x S 4 x I ¹ 10 x R ²	0.25 mg/L; 5 x 1 mg/L; 1.5 mg/L; 2 mg/L; 4 mg/L 0.25 mg/L; 1.5 mg/L; 2 x 6 mg/L 1 mg/L; 1.5 mg/L; 3 x 4 mg/L; >16 mg/L; 32 mg/L; 3 x >32 mg/L
Imipenem	1	2 x * ³ 1 x S	0.5 mg/L; 0.75 mg/L 2 mg/L
Ertapenem	1	1 x R	>32 mg/L
Ciprofloxacine	3	1 x I 2 x R	3 mg/L 3 mg/L; 4 mg/L
Gentamicine	2	2 x S	2 x 0.5 mg/L
Amikacine	2	2 x S	1.5 mg/L; 2 mg/L

- ¹ Eén laboratorium gaf een opmerking bij zijn antwoord "I". "PCR voor OXA-48 was positief: er wordt een opmerking op het rapport voorzien bij meropenem: Deze kiem produceert een carbapenemase en werd bevestigd door moleculaire technieken. Behandeling met meropenem alleen overwegen na advies van infectioloog of microbioloog. Als behandeling met meropenem noodzakelijk is, moet een hoge dosis (6 g/dag) gebruikt worden.
- ² Eén laboratorium gaf een opmerking bij zijn antwoord "R": E-test toonde kleine doorgroei kolonies in het gebied boven 32 µg/mL = R
- ³ Twee laboratoria gaven een opmerking:
- screening breakpoint $\geq 0,5$; zone ≤ 23 mm: CPE te bevestigen via PCR
 - Vermoeden van carbapenemase, type OXA 48. De expertresultaten van ceftazidime en meropenem hangen af van de bevestiging van de aanwezigheid van een carbapenemase van type OXA-48. Als afwezig: → ceftazidime en meropenem gevoelig. Als aanwezig: → ceftazidime en meropenem intermediair gevoelig. Merk op: afwezigheid van CLSI guidelines voor de interpretatie van de cefalosporines (en carbapenems) in geval van aanwezigheid van een carbapenemase van type OXA 48.

Vier laboratoria gebruikten de MICE-test voor de bepaling van de gevoeligheid voor meropenem: drie bekwamen het resultaat "I" (MIC-waarden: 1.5 mg/L; 2 x 2 mg/L) en één labo het resultaat "S" (MIC-waarde 0.25 mg/L).

Één laboratorium gebruikte deze test voor de bepaling van de gevoeligheid voor levofloxacin met het resultaat "S" (MIC-waarde: 0.25 mg/L).

De resultaten die met de MIC test Strip bekomen werden, zijn samengevat in onderstaande tabel.

Tabel 4.3.5. Resultaten bekomen MIC-waarden met de MIC test Strip voor staal M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal laboratoria</i>	<i>Resultaat</i>	<i>MIC-waarde (mg/L)</i>
Meropenem	6	3 x I 1 x I/R 2 x R	1.5 mg/L; 2 x 4 mg/L 2 en 4 mg/L ¹ 2 x 4 mg/L
Ertapenem	2	2 x R	2 x 4 mg/L

¹ Dit laboratorium gaf de opmerking: "kolonies binnen ellips ook geantwoord: 2 resultaten van deze test voor meropenem"

De resultaten bekomen met de Vitek worden weergegeven in tabel 4.3.6.

Tabel 4.3.6. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

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	S/I	I	R	*		
Ampicilline	-	-	66	-	≥32	66 (66)	-	-	-	32	-	≥32	31 (32)
Amoxicilline-clavulaanzuur	-	-	66	-	≥32	66 (66)	-	-	-	32	-	≥32	31 (32)
Cefuroxime	54 ¹	4	8	-	4	65 (66)	28	1 ²	-	2	1 ³	4	31 (32)
Ceftazidime	61 ⁴	3	3	-	≤1	65 (66)	29	-	-	1	2 ⁵	≤1	31 (32)
Meropenem	22 ⁶	1	16	2 ⁸	4	32 (58)	16 ₉	-	2	5 ¹⁰	3 ¹¹	2	12 (26)
Levofloxacin	-	4	28	-	4	31 (32)	1	-	4	9	-	4	12 (14)
Ciprofloxacine	-	6	58	-	≥4	36 (64)	-	-	4	28	-	2	17 (32)
Norfloxacin	-	-	1	-	2	1 (1)	-	-	-	-	-	-	-
Co-trimoxazole	-	-	66	-	≥320	65 (66)	-	-	-	31	-	≥320	29 (31)
Nitrofurantoïne	-	-	57	-	128	42 (57)	-	-	-	23	-	128	18 (23)
Gentamicine	64	-	1	-	≤1	65 (65)	30	-	-	-	-	≤1	30 (31)

¹ Twee laboratoria gaven een opmerking bij hun antwoord "S":

- Vermoeden carbapenemase: indien geconfirmeerd: cefuroxime en ceftazidime R OXA 48? Geen interpretatie voorgesteld (EUCAST of CLSI 2012) voor de cefalosporines. De mogelijkheid van een carbapenemase (te bevestigen) en de limiet MIC voor cefuroxime melden aan de clinicus

² Eén laboratorium vermeldde S i.g.v. IV en I i.g.v. PO

³ Eén laboratorium gaf een opmerking: "CPE. Vitek 2 system past "alert" toe: "Verdacht voor carbapenemase. Confirmeren. Stam naar referentielabo sturen." Confirmatie + met modified Hodge test. Zou in antwoord naar de aanvrager schrijven om contact op te nemen met de klinisch bioloog ivm antibiotherapie aangezien men strictu sensu geen eenduidig antwoord S, I of R kan geven. Het gaat hier trouwens om een urineweginfectie."

⁴ Twee laboratoria gaven een opmerking bij hun antwoord "S":

- Vermoeden carbapenemase: indien geconfirmeerd: cefuroxime en ceftazidime R
- OXA 48? Geen interpretatie voorgesteld (EUCAST of CLSI 2012) voor de cefalosporines. De mogelijkheid van een carbapenemase (te bevestigen) en de limiet MIC voor cefuroxime melden aan de clinicus

⁵ Twee laboratoria gaven een opmerking

- Carbapenemase?: stam doorgestuurd naar referentielabo voor verdere bepaling carbapenem→verdacht MIC meropenem ≥1; meropenem wordt normaal niet doorgegeven naar de huisarts: hier geantwoord ivm carbapenemase. Ceftazidime ook niet (we hebben MICs vermeld voor statistieken)
- CPE. Vitek 2 system past "alert" toe: "Verdacht voor carbapenemase. Confirmeren. Stam naar referentielabo sturen." Confirmatie + met modified Hodge test. Zou in antwoord naar de aanvrager schrijven om contact op te nemen met de klinisch bioloog ivm antibiotherapie aangezien men strictu sensu geen eenduidig antwoord S, I of R kan geven. Het gaat hier trouwens om een urineweginfectie.

⁶ Twee laboratoria gaven een opmerking bij hun antwoord "S":

- Vitek AES: carbapenemase verdacht : →diskdiffusie: ertapenem: ø19; meropenem: ø22: →stam op te sturen naar reflabo
- Klasse D CPE; Meropenem MIC= 4 µg/mL: CLSI 2009 = S; CLSI 2012 = R; onze vitek software gebruikt nog CLSI 2009

- 7 Twee laboratoria gaven een opmerking bij hun antwoord "R": " Vitek 2 meet de MIC van meropenem aan 0,5 en verhoogt deze vervolgens 3 à 4 maal. – Wij interpreteren meropenem als R (als de carbapenemase bevestigd wordt) en wij geven de MIC door aan de clinici
- 8 Eén laboratorium vermeldde wel de bekomen MIC (4 mg/l) maar gaf geen interpretatie.
Eén laboratorium gaf een opmerking; "Meropenem: expertsysteem waarschuwt voor mogelijk CPE. Alle enterobacteriaceae met MIC meropenem ≥ 1 worden naar referentiecentrum gestuurd. Dit wordt in antwoord arts vermeld : "mogelijk CPE stam, doorgestuurd naar referentiecentrum". Volgens de laatste CLSI richtlijnen is meropenem MIC 4 R, volgens EUCAST is dit I. Vitek instellingen CLSI zijn gebaseerd op CLSI 2009. Rosco Neosensitabs new voor carbapenemase screen (2009): meropenem 23 (≤ 22), imipenem 21 (≤ 22), ertapenem 17 (≤ 22): besluit meropenem alleen detecteert eventueel CPE niet. Richtlijnen 2011 meropenem screen (≤ 23):→zou deze opgepikt worden."
- 9 Twee laboratoria gaven een opmerking bij hun antwoord "S":
- CPE klasse D; CLSI 2009: meropenem 4 $\mu\text{g/mL}$:→S; CLSI 2012: meropenem 4 $\mu\text{g/mL}$:→R
 - Zal niet geantwoord worden: resultaat afhankelijk van reflab. Advies EUCAST: alle stammen met MIC meropenem ≥ 1 mg/L en zone $\emptyset \leq 23$ mm. worden doorgestuurd voor uitsluiten carbapenemase
- 10 Eén laboratorium gaf een opmerking bij zijn antwoord "R": "Gerapporteerd resultaat meropenem = R in afwachting van resultaten referentielabo (carbapenemase?)"
Een ander laboratorium vermeldde bij het resultaat van de Vitek: "Vitek 2 compact toont een warning en beveelt een E-test carbapenems aan" (Resultaat E-test was "R").
- 11 Drie laboratoria gaven een opmerking:
- verdacht voor CPE, type OXA
 - Carbapenemase?: stam doorgestuurd naar referentielabo voor verdere bepaling carbapenem→verdacht MIC meropenem ≥ 1 ; meropenem wordt normaal niet doorgegeven naar de huisarts: hier geantwoord ivm carbapenemase. Ceftriaxon ook niet (we hebben MICs vermeld voor statistieken)
 - CPE. Vitek 2 system past "alert" toe: "Verdacht voor carbapenemase. Confirmeren. Stam naar referentielabo sturen." Confirmatie + met modified Hodge test. Zou in antwoord naar de aanvrager schrijven om contact op te nemen met de klinisch bioloog ivm antibiotherapie aangezien men strictu sensu geen eenduidig antwoord S, I of R kan geven. Het gaat hier trouwens om een urineweginfectie.

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 cefuroxime vond 1 laboratorium een MIC > 4 mg/L met Vitek 2
- voor ceftriaxon vond 1 laboratorium een MIC van 4 mg/L met Vitek 2
- voor meropenem vonden 2 deelnemers een MIC van 0.5 mg/L met Vitek 2, 6 deelnemers een MIC van 1 mg/L, 17 labo's een MIC van 2 mg/L en één laboratorium een MIC van 8 mg/L; met Vitek 2 compact vonden 11 laboratoria een MIC van 4 mg/L en 2 deelnemers een MIC van 1 mg/L
- voor levofloxacin vond 1 laboratorium een MIC ≥ 4 mg/L met Vitek 2 en 1 deelnemer een MIC van 2 mg/L met Vitek 2 compact
- voor ciprofloxacine vonden 28 deelnemers een MIC van 2 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vonden 14 deelnemers een MIC ≥ 4 mg/L
- voor co-trimoxazole vond 1 laboratorium een MIC > 32 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vond 1 laboratorium een MIC ≥ 16 mg/L
- voor nitrofurantoin vonden 15 laboratoria een MIC van 256 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vonden 4 laboratoria een MIC van 256 mg/L en één labo een MIC ≥ 128 mg/L

De resultaten bekomen met de ATB methode worden weergegeven in tabel 4.3.7.

Tabel 4.3.7. Resultaten bekomen met de ATB methode voor staal M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*)

<i>Antibioticum</i>	<i>Resultaat</i>			
	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>	<i>*</i>
Ampicilline	-	-	2	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	-	-	2	-
Cefuroxime	1	-	-	1 ¹
Ceftazidime	1	-	-	1 ¹
Meropenem	1	-	-	1 ¹
Levofloxacin	-	-	3	-
Ciprofloxacine	-	-	2	-
Co-trimoxazole	-	-	2	-
Nitrofurantoïne	-	1	1	-
Gentamicine	2	-	-	-

¹ Eén laboratorium gaf voor deze 3 antibiotica de opmerking: "contacteer microbioloog voor bespreking (niet te vatten in S, I, R)"

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.3.8.

Tabel 4.3.8. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*)

<i>Antibioticum</i>	<i>Resultaat</i>				<i>Meest vermelde MIC waarde (mg/l)</i>	<i>Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)</i>
	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>	<i>*</i>		
Ampicilline	-	-	16	-	>8	16 (16)
Amoxicilline-clavulaanzuur	-	-	16	-	>8/2	16 (16)
Cefuroxime	13	-	2	1 ¹	8	14 (16)
Ceftazidime	14	-	2	-	≤1	16 (16)
Meropenem	7	1 ²	5 ³	-	1	11 (13)
Levofloxacin	-	-	5	-	>2	5 (5)
Ciprofloxacine	-	-	16	-	>1	16 (16)
Co-trimoxazole	-	-	16	-	≥4/76	16 (16)
Nitrofurantoïne	-	-	16	-	>64	16 (16)
Gentamicine	15	-	-	-	≤1	15 (15)

¹ Eén laboratorium vermeldde wel de bekomen MIC (8 mg/l) maar gaf geen interpretatie.

² Eén laboratorium gaf een opmerking bij zijn antwoord "I": "PCR voor OXA-48 was positief: er wordt een opmerking op het rapport voorzien bij meropenem: Deze kiem produceert een carbapenemase en werd bevestigd door moleculaire technieken. Behandeling met meropenem alleen overwegen na advies van infectioloog of microbioloog. Als behandeling met meropenem noodzakelijk is, moet een hoge dosis (6 g/dag) gebruikt worden."

³ Eén laboratorium gaf een opmerking bij zijn antwoord "R": "indien geconfirmeerd carbapenemase KPE +"

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 cefuroxime vonden 2 laboratoria een MIC >8 mg/L
- voor meropenem vond 1 deelnemer een MIC ≤0.5 mg/L

De resultaten bekomen met de Microscan worden weergegeven in tabel 4.3.9.

Tabel 4.3.9. Resultaten bekomen met de Microscan voor M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Resultaat</i>			
	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>	<i>*</i>
Ampicilline	-	-	3	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	-	-	3	-
Cefuroxime	2	-	-	1 ¹
Ceftazidime	2	-	-	1 ¹
Meropenem	1	-	-	1 ¹
Levofloxacin	-	-	2	-
Ciprofloxacine	-	-	3	-
Co-trimoxazole	-	-	3	-
Nitrofurantoïne	-	-	3	-
Gentamicine	3	-	-	-

¹ Eén laboratorium gaf voor deze 3 antibiotica de opmerking: "Hodge test pos; temocilline R klasse D? OXA-48?; dit AB wordt niet gerapporteerd doch er wordt contact gezocht met de arts."

De resultaten bekomen met de toestellen Osiris, Adagio en Sirscan worden weergegeven in tabel 4.3.10., 4.3.11. en 4.3.12 a, b en c. De berekeningen van mediaan, minimum en maximum zijn voor het merendeel van deze bepalingen echter niet uitgevoerd omwille van het beperkte aantal deelnemers (N < 6).

Tabel 4.3.10. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>			
		<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>	<i>*</i>
Ampicilline	3	-	-	3	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	4	-	-	4	-
Cefuroxime	3	1	-	-	2 ¹
Ceftazidime	3	3	-	-	-
Cefotaxime	1	-	-	-	1 ²
Meropenem	3	1	1	-	1 ³
Levofloxacin	4	-	-	4	-
Co-trimoxazole	4	-	-	4	-
Nitrofurantoïne	4	-	-	4	-
Gentamicine	2	2	-	-	-
Amikacine	1	1	-	-	-

¹ Twee laboratoria wachten op het resultaat van het referentiecentrum.

² Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor cefotaxime i.p.v. ceftazidime en zou op het resultaat van het referentiecentrum wachten.

³ Eén laboratorium verwees naar de MIC-bepaling die het uitvoerde ("I").

Tabel 4.3.11. Resultaten bekomen met de Adagio voor staal M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>			
		<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>	<i>*</i>
Ampicilline	5	-	-	5	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	5	-	-	5	-
Cefuroxime	5	3	-	1	1 ¹
Ceftazidime	5	3	-	1	1 ¹
Meropenem	5	1	-	3	1 ¹
Levofloxacin	3	-	1	2	-
Ciprofloxacine	3	-	1	2	-
Co-trimoxazole	5	-	-	5	-
Nitrofurantoin	4	-	-	4	-
Gentamicine	4	4	-	-	-

¹ Eén laboratorium gaf voor deze 3 antibiotica de opmerking: "Hodgetest & doorsturen ter uitsluiting CPE (mero gevoeligheid gedaald en temo R). Resultaat afhankelijk van CPE"

Tabel 4.3.12.a. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (Neosensitabs ladingen) voor staal M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>		
		<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	2	-	-	2
Amoxicilline-clavulaanzuur	2	-	-	2
Cefuroxime	2	2	-	-
Ceftazidime	2	2 ¹	-	-
Meropenem	3	2	-	1
Ertapenem	2	-	-	2
Levofloxacin	2	-	2	-
Ciprofloxacine	2	-	-	2
Nitrofurantoin	2	-	-	2

¹ Twee laboratoria gaven hierbij de opmerking: "Indien CPE bevestigd wordt dan ceftazidime niet aan te raden als er ook ESBL of amp C aanwezig is"

Tabel 4.3.12.b. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (CLSI ladingen) voor staal M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>			
		<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>	<i>*</i>
Ampicilline	5	-	-	5	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	5	-	-	5	-
Cefuroxime	5	4	1	-	-
Ceftazidime	5	5	-	-	-
Meropenem	4	2	1	-	1 ¹
Levofloxacin	1	-	-	1	-
Ciprofloxacin	4	-	3	1	-
Co-trimoxazole	4	-	-	4	-
Nitrofurantoïne	4	-	2	2	-
Gentamicine	2	2	-	-	-
Amikacine	1	1	-	-	-

¹ Eén laboratorium gaf wel de bekomen diameter met Neosensitabs (23 mm) maar vermeldde dat ze het staal zouden doorsturen om de meropenemgevoeligheid te antwoorden

Tabel 4.3.12.c. Resultaten bekomen met de Sirscan met de papieren schijfjes voor staal M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)</i>	<i>Lading (µg/schijfje)</i>	<i>Mediane diameter</i>	<i>Grenswaarden diameter</i>	<i>Resultaat (Totaal aantal gebruikers)</i>			
					<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>	<i>*</i>
Ampicilline	7 (8)	10	6	6 – 6	-	-	8	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	7 (8)	20+10	6	6 – 6	-	-	8	-
Cefuroxime	7 (8)	30	23	20 – 27	5	1	2	-
Ceftazidime	4 (8)	30	31	28 – 33	6 ¹	2	-	-
Meropenem	7(7)	10	22	19 – 27	2	4	-	1 ¹
Levofloxacin	3 (3)	5	15	18 – 19	-	2	1	-
Ciprofloxacin	6 (7)	5	16.5	14 – 20	-	4	3	-
Norfloxacine	1 (1)	10	16	-	-	-	1	-
Co-trimoxazole	7 (8)	1.25 + 23.75	6	6 – 6	-	-	8	-
Nitrofurantoïne	5 (9)	300	11	11 – 13	1	-	8	-
Gentamicine	7 (8)	10	23	18 – 26	7	-	1	-

¹ Eén laboratorium antwoordde “S” voor ceftazidime maar mits een opmerking en voor meropenem gaf dit laboratorium enkel diezelfde opmerking weer: “Vermoeden van carbapenemase, type OXA 48. De expertresultaten van ceftazidime en meropenem hangen af van de bevestiging van de aanwezigheid van een carbapenemase van type OXA-48. Als afwezig:→ceftazidime en meropenem gevoelig. Als aanwezig:→ceftazidime en meropenem intermediair gevoelig. Merk op: afwezigheid van CLSI guidelines voor de interpretatie van de cefalosporines (en carbapenems) in geval van aanwezigheid van een carbapenemase van type OXA 48.”

We dienen nog op te merken dat één laboratorium de techniek niet vermeldde die het gebruikte om levofloxacin als resistent te beoordelen.

De meeste laboratoria behielden het ruw resultaat voor het antwoorden van het finale resultaat. Toch wijzigden enkele laboratoria het ruw resultaat; sommigen baseerden zich hierbij op het gebruik van verschillende technieken:

- Cefuroxime:
 - o S→I
 - Papieren schijfjes: 1 labo
 - Sirscan papieren schijfjes: 1 labo
 - Vitek 2: 4 labo's
 - o S→R
 - Papieren schijfjes: 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - Sirscan papieren schijfjes: 2 labo's (1 mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - Adagio: 1 labo
 - Vitek 2: 7 labo's (3 mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - Vitek 2 compact: 2 labo's
 - o I→R
 - Papieren schijfjes: 1 labo
- Ceftazidime:
 - o S→I
 - Papieren schijfjes: 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - Sirscan papieren schijfjes: 1 labo
 - Vitek 2: 3 labo's (2 mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - o S→R
 - Papieren schijfjes: 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - Sirscan papieren schijfjes: 2 labo's (1 mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - Adagio: 1 labo
 - Vitek 2: 3 labo's (2 mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - Vitek 2 compact: 1 labo
 - Phoenix: 2 labo's
- Meropenem
 - o S→I
 - Papieren schijfjes: 2 labo's (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - Sirscan papieren schijfjes: 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - Neosensitabs nieuwe ladingen: 1 labo
 - Sirscan nieuwe ladingen: 1 labo
 - E-test: 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)

- MICE: 2 labo's (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - MIC Test Strip: 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - Vitek 2: 5 labo's (3 mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - S→R
 - Neosensitabs nieuwe ladingen: 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - Sirscan klassieke ladingen: 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - Adagio: 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - E-test: 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - Vitek 2: 8 labo's (3 mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - Vitek 2 compact: 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - Phoenix: 5 labo's (2 mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - I→R
 - Papieren schijfjes: 1 labo
 - Adagio: 1 labo
 - E-test: 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - I→S
 - Neosensitabs nieuwe ladingen: 1 labo
 - Vitek 2: 1 labo
 - R→I
 - Sirscan papieren schijfjes: 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
- Levofloxacin
 - S→I
 - Papieren schijfjes: 2 labo's (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - Sirscan papieren schijfjes: 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - S→R
 - Neosensitabs klassieke ladingen: 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - Microscan: 2 labo's
 - I→R
 - Papieren schijfjes: 1 labo
 - Neosensitabs nieuwe ladingen: 1 labo
 - Osiris: 1 labo
 - Vitek 2 compact: 2 labo's
- Ciprofloxacin
 - S→R
 - Vitek 2: 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)

- I→R
 - Vitek 2: 11 labo's (1 mede op basis van de resultaten van andere technieken)
 - Vitek 2 compact: 4 labo's (1 mede op basis van de resultaten van andere technieken)

- Nitrofurantoïne
 - I→R
 - Neosensitabs nieuwe ladingen: 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
- Gentamicine
 - S→R
 - Sirscan papieren schijfjes: 1 labo
 - R→S
 - Microscan: 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. 32 laboratoria hebben het antwoord op de vraag open gelaten; mogelijk wilden een aantal onder hen op deze wijze aangeven dat zij geen bijkomende AB zouden voorstellen om te testen.

21 laboratoria vermeldden expliciet dat ze geen bijkomende AB zouden voorstellen. Enkele laboratoria vermeldden dat er een Hodge-test dient uitgevoerd te worden.

Tabel 4.3.13. Bijkomende antibiotica gesuggereerd door de laboratoria om te testen voor staal M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

	Voorgesteld antibioticum	Aantal labo's
1 AB	Fosfomycine	21
	Colistine	4
	Temocilline	4
	Meropenem ¹	3
	Tigecycline	3
	Cefepime	1
	Ertapenem	1
2 AB	Colistine – Tigecycline	17
	Fosfomycine – Temocilline	4
	Aztreonam – Temocilline	2
	Temocilline – Tigecycline	2
	Aztreonam – Fosfomycine	1
	Cefalosporines 3 ^e /4 ^e generatie – Sulfamides	1
	Colistine – Fosfomycine	1
	Colistine – Thiamfenicol	1
	Fosfomycine – Tigecycline	1
	Gentamicine – Tigecycline	1
	Levofloxacin – Temocilline	1
	Polymyxines - Tigecycline	1
	3 AB	Colistine – Fosfomycine – Tigecycline
Aztreonam - Colistine – Tigecycline		7
Amikacine - Colistine – Fosfomycine		1
Aztreonam - Colistine – Temocilline		1
Aztreonam - Fosfomycine – Temocilline		1
Carbapenem - Cefalosporines 3 ^e generatie – Fosfomycine		1
Ceftriaxon - Fosfomycine – Tigecycline		1
Colistine – Ertapenem – Temocilline		1
Colistine – Gentamicine – Tigecycline		1
Fosfomycine – Polymyxines – Temocilline		1
Fosfomycine – Temocilline - Piperacilline/tazobactam		1
4 AB	Aztreonam – Colistine – Fosfomycine – Tigecycline	3
	Amikacine – Aztreonam – Cefepime - Tigecycline	1
	Aztreonam – Colistine – Fosfomycine – Gentamicine	1
	Aztreonam – Colistine – Temocilline – Tigecycline	1
	Cefepime – Colistine – Ertapenem – Tigecycline	1
	Chloramfenicol – Colistine – Fosfomycine – Tigecycline	1
5 AB	Aztreonam – Cefepime – Cefotaxime – Gentamicine – Tigecycline	1
	Aztreonam – Colistine – Fosfomycine – Gentamicine – Tigecycline	1
	Aztreonam – Colistine – Fosfomycine – Temocilline – Tigecycline	1
	Aztreonam – Colistine – Piperacilline/tazobactam - Temocilline – Tigecycline	1
	Aztreonam – Fosfomycine – Meropenem (-Amikacine – Gentamicine)	1

¹ Eén laboratorium (dat meropenem getest heeft met schijfjes en Vitek 2, telkens resultaat R) vermeldde dat het hier confirmatie met de E-test betreft. Een ander laboratorium vermeldde eveneens dat het confirmatie betrof van zijn eigen resultaat waar het niet geheel zeker van was (R?).

Een aantal laboratoria vermeldden dat zij (sommige van) deze antibiotica getest hebben:

- Colistine: 5 labo's: 5 x S
- Tigecycline: 4 labo's: 3 x S, 1 x I
- Temocilline: 4 labo's: 1 x R, 1 x S, 1 x MIC = 32 µg/mL, 1 x MIC = 1024 µg/ml
- Fosfomycine: 4 labo's: 1 x S, 1 x R, 1 x I, 1 x MIC ≤32 µg/mL
- Ertapenem: 2 labo's: 2 x R
- Aztreonam: 2 labo's: 1 x S, 1 x MIC ≤1 µg/mL
- Gentamicine: 1 labo: S

119 laboratoria zouden deze stam in routine naar een referentielaboratorium sturen voor analyse en bevestiging van de resistentiemechanismen.

5.1. De monsters

Ter gelegenheid van deze enquête werden 2 geformaliseerde fecesstalen verzonden
156 laboratoria hebben aan deze enquête deelgenomen.

Het aantal toolkit gebruikers bedroeg 63.2%. Wij zouden willen vragen om zoveel mogelijk van deze antwoordmogelijkheid gebruik te maken. Bovendien een snellere verwerking, biedt de toolkit tevens het voordeel dat een aantal fouten vermeden kunnen worden: schrijffouten, gebruik van oudere codes, encodagefouten,...

De stalen waren vergezeld van volgende klinische informatie:

P/11892

6-jarige jongen die vanuit Ethiopië naar België komt in kader van adoptie. Kort na aankomst diarree, nu beter.

P/11967

Een 42-jarige patiënte, die sinds 1 jaar gediagnosticeerd werd met de ziekte van Hodgkin, vertoont sinds 6 maanden een waterige diarree.

Staal P/11892 bevatte eieren van *Taenia* species.

Staal P/11967 bevatte oöcysten van *Isoospora belli*.

Dit staal werd reeds verstuurd in de enquêtes 2008/2 (als P/8315) en 2009/2 (als P/9273).

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.

5.2 Resultaten voor staal P/11892

De 156 laboratoria leverden 175 antwoorden in. Twee laboratoria antwoordden "Afwezigheid van parasieten", 135 laboratoria antwoordden één parasiet en 19 laboratoria antwoordden 2 parasieten.

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.2.1. Resultaten voor staal P/11892

Resultaat	Aantal
<i>Taenia</i> species	140
<i>Taenia saginata</i>	13
<i>Taenia solium</i>	1
<i>Blastocystis hominis</i>	17
<i>Endolimax nana</i>	1
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
Afwezigheid van parasieten	2
Total	175

Meerdere laboratoria vermeldden dat het op basis van de eieren onmogelijk is *T. saginata* van *T. solium* te onderscheiden en antwoordden derhalve *Taenia* species (twee laboratoria vermeldden dat op basis van de lokalisatie *T. saginata* het meest waarschijnlijk is).

Eén laboratorium dat *T. saginata* antwoordde, vermeldde dat het zich voor deze identificatie baseerde op de klinische gegevens en op het "uitgerekte" aspect van de eieren. Het laboratorium dat *T. solium* antwoordde, vermeldde dat de eieren niet zuurvast waren.

Honderdeenentwintig laboratoria die de aanwezigheid van slechts 1 parasiet vermeldden, hebben *Taenia* species geantwoord, dertien *T. saginata* en één *T. solium*. De combinaties van de laboratoria die twee parasieten geantwoord hebben, vindt u in onderstaande tabel..

Tabel 5.2.2. Combinatie van 2 parasieten geantwoord voor staal P/11892

Combinatie van parasieten	Aantal
<i>Taenia</i> species + <i>Blastocystis hominis</i>	17
<i>Taenia</i> species + <i>Endolimax nana</i>	1
<i>Taenia</i> species + <i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
Totaal	19

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Taenia* species worden in tabel 5.2.3. weergegeven.

Tabel 5.2.3. Evolutiestadia voor *Taenia* species voor staal P/11892

<i>Evolutiestadium</i>	<i>Aantal laboratoria</i>
Ei	136
Embryofoor	2
Cyste	2
Total	140

Alle laboratoria die *T. saginata* of *T. solium* antwoordden, vermeldden als evolutiestadium "ei".

Zeven laboratoria zouden dit staal in routine doorsturen naar een referentiecentrum: 6 onder hen hebben *Taenia* species geantwoord en één *T. saginata*.

Commentaar

Humane intestinale taeniase kan veroorzaakt worden door *Taenia saginata* en *T. solium*. *T. saginata*, met het rund als tussengastheer en de mens als eindgastheer, komt wereldwijd voor maar is vooral prevalent in sommige delen van Afrika, Centraal- en Zuid-Amerika, Oost- en West-Azië en sommige landen in Europa. Runderen besmetten zich door opname van eieren van *Taenia* bij het grazen. Deze eieren bevatten een infectieuze larve die zich na vrijkomen een weg zoekt door de darmmucosa en via de bloedbaan verspreidt naar het dwarsgestreepte spierweefsel waar zij zich ontwikkelt tot blaasworm of cysticercus. Dit is het infectieuze stadium voor de mens. Na ingestie van onvoldoende verhit besmet rundsvlees komt de jonge lintworm vrij, hecht zich met zijn scolex aan de mucosa van de dunne darm en begint proglottiden te vormen. Twee tot drie maanden nadat de mens de cysticerci heeft opgenomen, wordt de infectie duidelijk, meestal door het opmerken van de passage van proglottiden of door het vinden ervan in het ondergoed. Abdominale klachten, ongemak of diarree, kunnen optreden en in het ergste geval kan een grote worm abdominale obstructie veroorzaken.

T. solium, de lintworm van varkens, heeft een uitgebreide geografische verspreiding. Het varken besmet zich door het eten van met eieren gecontamineerde feces. De cysticerci nestelen zich in het spier- en hersenweefsel van varkens en, naar analogie met *T. saginata*, wordt de mens, de enige eindgastheer, geïnfecteerd door het eten van onvoldoende verhit, met cysticerci besmet varkensvlees of -weefsel.

De diagnose wordt meestal gesteld door de aanwezigheid van proglottiden die differentiatie tussen beide species toelaat (zie rapport enquête 2004/2). Soms, zoals bij dit adoptiekind uit Ethiopië, komen eieren in de stoelgang vrij op een moment dat de proglottiden het lichaam nog niet verlaten hebben. Eieren van *T. solium* en *T. saginata* zijn niet van elkaar te onderscheiden. Zoals correct opgemerkt door verschillende deelnemers, antwoordt men dus *Taenia* species als alleen eieren worden terug gevonden. De bruingekleurde eieren zijn rond, soms een beetje ovaal, en hebben een diameter van ongeveer 30-40 µm. Typisch is de dikke beschermende laag (embryofoor)

bestaande uit collageen, met een radiale structuur, die dikker wordt naarmate het ei rijpt. Het ei bevat een larve (oncosfeer) met 3 paar haakjes die niet steeds allemaal zichtbaar zijn. Soms is de membraan rond het ei nog te zien maar meestal barst die open wanneer de eieren de proglottide verlaten. Sedimentatie van het staal kan helpen als manier om de eieren te concentreren.

Twee laboratoria hebben een identificatie van de eieren tot op het niveau van de species gegeven op basis van de afwezigheid van zuurvastheid of op basis van de iets ovalere vorm van de eieren. Opvallend is daarbij dat beide laboratoria tot een verschillende identificatie besluiten. Hoewel rijpe eieren van beide species anders kunnen kleuren na zuurvaste kleuring en er in de literatuur gewag gemaakt wordt van een iets ovalere vorm van *T. saginata* eieren (1), is het wellicht veiliger de differentiatie te doen op basis van meer betrouwbare kenmerken. Het belang van de differentiatie is groot.

T. saginata vertegenwoordigt geen belangrijk risico voor de mens. Het gevaar bij *T. solium* treedt op wanneer de mens, zoals het varken, als tussengastheer optreedt door ingestie van eieren en (neuro)cysticercose ontwikkelt. De larve komt vrij uit het ei, baant zich een weg door de darmmucosa en verspreidt zich via de bloedbaan naar verschillende organen of invadeert deze rechtstreeks. Na enkele maanden ontwikkelt de mens cysticerci in het onderhuids weefsel en de spieren of het centraal zenuwstelsel. Intact veroorzaken deze cysticerci weinig inflammatie van het omliggende weefsel maar wanneer de cysticerci afsterven en antigeen lekken naar de omgeving kan een hevige reactie optreden door weefselbeschadiging. Cysticerci in het hersenweefsel geven typisch aanleiding tot epilepsie. Cysticercose komt veelvuldig voor in de ontwikkelingslanden waar varkens worden gekweekt als voedselbron, waaronder Latijns-Amerika, het grootste deel van Azië, sub-Saharisch Afrika en delen van Oceanië. In West-Europa is de infectie virtueel verdwenen en komt ze enkel voor bij immigranten en als importziekte. De diagnose wordt gesteld door klinisch onderzoek, beeldvorming en serologie (Ag-detectie in serum of lumbaal vocht).

Hoewel de manifestatie van de infectie bij de mens als tussen- of eindgastheer verschillend is, vindt men toch geregeld proglottiden (of eieren) van *T. solium* bij patiënten met (neuro)cysticercose. De reden hiervoor is auto-infectie: een drager van een volwassen *T. solium* kan een bron van besmetting zijn voor varkens als tussengastheer maar ook voor zichzelf of een andere persoon. Dat verklaart meteen waarom grote voorzichtigheid in het laboratorium geboden is bij het manipuleren van volwassen lintwormen en proglottiden.

M. Van Esbroeck, ITG, Antwerpen

Referenties

1. Jimenez JA, Rodriguez S, Moyano LM, Castillo Y, García HH. 2010. Differentiating *Taenia* eggs found in human stools: does Ziehl-Neelsen staining help? Trop Med Int Health. 15(9):1077-81.



5.3 Resultaten voor staal P/11967

De 156 laboratoria leverden 161 antwoorden in. Eén laboratoria antwoordde “Afwezigheid van parasieten”, 150 laboratoria antwoordden één parasiet en vijf laboratoria antwoordden 2 parasieten.

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven :

Tabel 5.3.1. Resultaten voor staal P/11967

Resultaat	Aantal
<i>Isospora belli</i>	155
<i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Chilomastix mesnili</i>	1
<i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	1
<i>Entamoeba species</i>	1
Afwezigheid van parasieten	1
Totaal	161

Twee laboratoria hebben vermeld dat de naam van *I. belli* recent gewijzigd werd in *Cystoisospora belli*.

Alle laboratoria die de aanwezigheid van slechts 1 parasiet vermeldden, hebben *Isospora belli* geantwoord.

Alle laboratoria die twee parasieten geantwoord hebben, hebben *I belli* vermeld en dan telkens één van de vijf parasieten opgenomen in tabel 5.3.1.

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Isospora belli* worden in tabel 5.3.2. weergegeven.

Tabel 5.3.2. Evolutiestadia voor *Isospora belli* voor staal P/11967

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Oöcyste	133
Cyste	15
Ei	3
Sporocyste	2
Niet gepreciseerd	2
Totaal	155

Onderstaande tabel vergelijkt de resultaten bekomen in 2008, 2009 en 2012 voor ditzelfde staal.

Tabel 5.3.3. Vergelijking van de resultaten voor eenzelfde staal verstuurd in de enquêtes 2008/2, 2009/2 en 2012/3

<i>Parasiet</i>	<i>P/8315 (2008/2)</i>	<i>P/9273 (2009/2)</i>	<i>P/11967 (2012/3)</i>
<i>I. belli</i>	95.3%	93.5%	99.4%

12 laboratoria zouden dit staal in routine doorsturen naar een referentiecentrum:

- 10 laboratoria hebben enkel *Isospora belli* geantwoord
- één laboratorium heeft *Isospora belli* en *E. hartmanni* geantwoord
- - één laboratorium heeft *Isospora belli* en *Entamoeba* species geantwoord en zou het staal doorsturen voor verdere identificatie van de Entamoeba

Commentaar

Isospora belli behoort tot de groep van de intestinale coccidia, meer bepaald tot het phylum Apicomplexa en orde van de Eucoccidiorida. Of *Isospora* behoort tot de familie Eimeriidae dan wel moet ondergebracht worden in de familie Sarcocystidae waartoe ook *Sarcocystis* behoort (1), is onderwerp van discussie. Op basis van moleculaire studies worden de species die zoogdieren infecteren, volgens bepaalde auteurs best getransfereerd naar het genus *Cystoisospora* waardoor deze onderscheiden worden van *Isospora* spp. die vogels infecteren (2-3).

Isosporiase is een kosmopolitische infectie die frequenter voorkomt in (sub)tropische regio's. Ze wordt gekenmerkt door diarree en steatorree die gepaard gaan met abdominale pijn, koorts en gewichtsverlies en tot dehydratie en cachexie kunnen leiden. Eosinofilie komt vaak voor. Bij gezonde mensen zijn de infecties *self-limiting*. Ernstige klachten treden op bij patiënten met lage immuniteit, met name bij aidspatiënten, maar ook bij patiënten met lymfoproliferatieve ziekten zoals de ziekte van Hodgkin. De behandeling berust op cotrimoxazole dat kan gegeven worden om de symptomen te verlichten of dat noodzakelijk kan zijn om de infectie te eradiceren bij risicopatiënten.

Isospora belli is een obligaat intracellulaire parasiet. De mens besmet zich door opname van voedsel of water dat gesporuleerde oöcysten bevat. Er is geen dierlijk reservoir gekend. De incubatietijd duurt 3-14 dagen. De parasiet ontwikkelt zich in de epitheelcellen van de dunne darm. Het duurt 9-17 dagen alvorens oöcysten in de stoelgang worden uitgescheiden. De periode van uitscheiding is nogal variabel en hangt af van de immunstatus van de gastheer. Bij normale immuniteit duurt de periode 30-50 dagen, bij verminderde immuniteit kan dat tot meer dan 6 maanden zijn. Wat uitgescheiden wordt met de feces, zijn niet- of gedeeltelijk gesporuleerde oöcysten. De sporulatie wordt buiten het lichaam voltooid, en dit normaliter in minder dan 72 uur, maar het kan, afhankelijk van de temperatuur, meer dan 5 dagen duren vooraleer de uitgescheiden oöcysten infectieus worden voor een nieuwe gastheer. Rijpe oöcysten bevatten twee sporocysten die elk vier sporozoïeten bevatten.

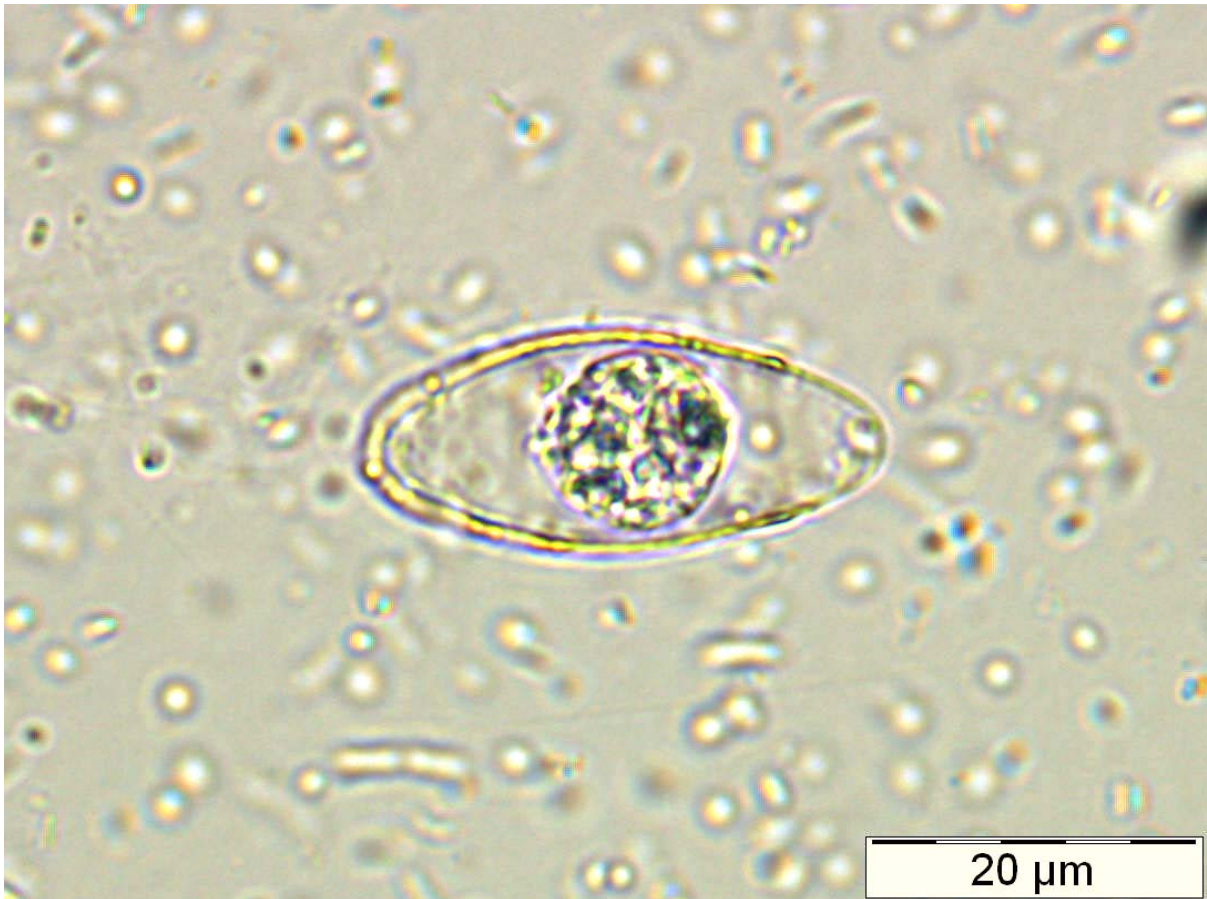
De diagnose wordt gesteld door detectie in de stoelgang van de fles- of spoelvormige oöcysten met zeer dunne wand, die 25-33 µm lang en 12-16 µm breed zijn en die 1-2 sporoblasten met een korrelige inhoud bevatten. Grote hoeveelheden oöcysten worden

niet gauw gemist. Om kleinere aantallen oöcysten met voldoende hoge gevoeligheid op te sporen kan een concentratietechniek volgens Ridley, hoewel niet ideaal, nuttig zijn. Men kan gebruik maken van een gemodificeerde zuurvaste kleuring of van de eigenschap van de oöcysten om te autofluoresceren. De infectie mag niet uitgesloten worden op basis van onderzoek van één enkel stoelgangsstaal.

M. Van Esbroeck, ITG, Antwerpen

Referenties

1. Franzen C, Müller A, Bialek R, Diehl V, Salzberger B, Fätkenheuer G. Taxonomic position of the human intestinal protozoan parasite *Isoospora belli* as based on ribosomal RNA sequences. *Parasitol Res.* 2000 Aug;86(8):669-76.
2. Schrenzel JR, Carreno R, Rideout BA. The genus *Atoxoplasma* (Garnham 1950) as a junior objective synonym of the genus *Isoospora* (Schneider 1881) species infecting birds and resurrection of *Cystoisospora* (Frenkel 1977) as the correct genus for *Isoospora* species infecting mammals. *J Parasitol.* 2005 Jun;91(3):726-7.
3. Oliveira-Silva MB, Lages-Silva E, Resende DV, Prata A, Ramirez LE, Frenkel JK. *Cystoisospora belli*: in vitro multiplication in mammalian cells. *Exp Parasitol.* 2006 Nov;114(3):189-92.
- 4.



6.1. Mycoplasma pneumoniae

6.1.1 Informatie betreffende de stalen

Er werden 2 stalen rondgestuurd: S/7731 en IS/11713.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

IS/7731: Een jonge man raadpleegt zijn arts wegens koorts, keelpijn en een aanslepende droge hoest.

IS/11713: Een jonge vrouw biedt zich aan bij haar huisarts met klachten van algemeen onwelzijn, lichte koorts, hoofdpijn, keelpijn en een aanslepende droge hoest.

De verwachte resultaten en interpretaties waren :

S/7731:

Totale AS: negatief
IgG: negatief
IgM: negatief
IgA: negatief
Interpretatie: Afwezigheid van antistoffen (code 1)

IS/11713:

Totale AS: positief
IgG: positief
IgM: positief
IgA: negatief

Interpretatie: Aanwezigheid van antistoffen, suggestief voor een actieve infectie (code 2).

Het antwoord "afname van een controle staal om een toename in antistof titer te kunnen aantonen" is ook correct voor laboratoria die enkel totale As. of IgG bepaald hebben

6.1.2. De deelnemers

In het totaal stuurden 149 laboratoria hun enquêteformulier terug; 148 Belgische en Luxemburgse en 1 firmalaboratorium (kits: Mycoplasma pneumoniae IgA Elisa, Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa en Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa (Euroimmun)). Dit laatste werd niet in de verdere verwerking opgenomen (resultaten: S/7731: alles negatief; IS/11713: IgA en IgM negatief; IgG positief).

Op staal S/7731 voerden 25 laboratoria 1 test uit, 117 laboratoria 2 testen, 5 laboratoria 3 testen en 1 laboratorium 4 testen; in totaal dus 278 testen.

Op staal IS/11713 voerden 22 laboratoria 1 test uit, 119 laboratoria 2 testen, 6 laboratoria 3 testen en 1 laboratorium 4 testen; in totaal dus 282 testen.

Onderstaande tabel geeft de uitgevoerde parameters per laboratorium weer

Tabel 6.1.1. Aantal deelnemers verdeeld per uitgevoerde parameters

<i>Nombre de tests</i>	<i>Types de tests</i>	<i>S/7731</i>	<i>IS/11713</i>
1 test	Totale As	15	12
	IgM	10	10
2 testen	IgG + IgM	89	88
	Totale As + IgM	25	28
3 testen	IgA + IgM	2	2
	2 x Totale AS	1	1
	IgA + IgG + IgM	3	4
	Totale As + IgA + IgM	1	1
4 testen	Totale As + IgG + IgM	1	1
	2 x IgG + 2 x IgM	1	1
Totaal		148	148

Op staal S/7731 werden dus 44 bepalingen van de totale As uitgevoerd, 95 bepalingen van de IgG, 133 van de IgM en 6 van de IgA.

Op staal IS/11713 werden 44 bepalingen van de totale As uitgevoerd, 95 bepalingen van de IgG, 136 van de IgM en 7 van de IgA..

6.1.3. Gebruikte reagentia

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

Tabel 6.1.2.: Reagentia gebruikt ter bepaling van de anti-*Mycoplasma pneumoniae* totale antistoffen

Fabrikant	Reagens	S/7731	IS/11713
Fujirebio	Serodia-Myco II	42	42
Serion (verdeler Labconsult)	Mycoplasma pneumoniae complement fixation	2	2
Totaal		44	44

Tabel 6.1.3.: Reagentia gebruikt ter bepaling van de anti-*Mycoplasma pneumoniae* IgG

Fabrikant	Reagens	S/7731	IS/11713
Anilab (verdeler BMD)	Mycoplasma pneumoniae IgG EIA	7	7
ApDia	Mycoplasma pneumoniae IgG	4	4
Biorad	Platelia M. pneumoniae IgG	2	2
Biotest	Vir-Elisa Anti-Mycoplasma IgG Elisa	1	1
Diasorin	Liaison Mycoplasma pneumoniae IgG	19	19
Diesse (verdeler International Medical)	Chorus Mycoplasma pneumoniae IgG	10	10
Euroimmun (verdeler Biognost)	Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa	7	7
Medac	Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa	8	8
Savyon Diagnostics (Diasorin)	SeroMP IgG	28	28
Serion (verdeler Labconsult)	Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa	4	4
Siemens	Novagnost Mycoplasma pneumoniae IgG	5	5
Totaal		95	95

Tabel 6.1.4.: Reagentia gebruikt ter bepaling van anti-*Mycoplasma pneumoniae* IgM

Fabrikant	Reagens	S/7731	IS/11713
Anilab (verdelers BMD)	Mycoplasma pneumoniae IgM EIA	7	7
ApDia	Mycoplasma pneumoniae IgM	3	3
Biorad	Platelia M. pneumoniae IgM	3	3
Biotest	Vir-Elisa Anti-Mycoplasma IgM Elisa	1	1
Diasorin	Liaison Mycoplasma pneumoniae IgM	20	20
Diesse (verdelers International Medical)	Chorus Mycoplasma pneumoniae IgM	12	12
Euroimmun (verdelers Biognost)	Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa	8	9
Genbio (verdelers BMD)	Mycoplasma pneumoniae IgM EIA	3	3
	Immunoflow IgM	1	1
Medac	Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa	11	11
Meridian	Immunocard Mycoplasma IgM	25	27
Savyon Diagnostics (Diasorin)	SeroMP IgM	28	28
Serion (verdelers Labconsult)	Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa	5	5
Siemens	Novagnost Mycoplasma pneumoniae IgM	6	6
Totaal		133	136

Tabel 6.1.5.: Reagentia gebruikt ter bepaling van anti-*Mycoplasma pneumoniae* IgA

Fabrikant	Reagens	S/7731	IS/11713
Euroimmun (verdelers Biognost)	Mycoplasma pneumoniae IgA Elisa	1	1
Medac	Mycoplasma pneumoniae IgA Elisa	4	5
Savyon Diagnostics (Diasorin)	SeroMP recombinant IgA	1	1
Totaal		6	7

6.1.4. Resultaten

6.1.4.1. Staal S/7731

6.1.4.1.1. Totale antistoffen

42 laboratoria die de totale antistoffen bepaalden, bevonden deze negatief; één laboratorium bekwam verschillende resultaten (positief en negatief) met de beide gebruikte kits.

6.1.4.1.2. IgG

92 laboratoria die de IgG bepaalden, bevonden deze negatief (het laboratorium dat de IgG met 2 verschillende kits bepaalde, bekwam een negatief resultaat met beide kits). Twee laboratoria bekwamen een borderline resultaat.

6.1.4.1.3. IgM

127 laboratoria die de IgM bepaalden, bevonden deze negatief (het laboratorium dat de IgM met 2 verschillende kits bepaalde, bekwam een negatief resultaat met beide kits). Vier laboratoria bekwamen een positief resultaat.

6.1.4.1.4. IgA

Alle laboratoria die de IgA bepaalden, bevonden deze negatief.

6.1.4.2. Interpretatie

De meeste laboratoria kozen voor de interpretatie “Afwezigheid van antistoffen” (code 1). Een aantal laboratoria koos voor een andere optie of stelde een eigen interpretatie voor. Een overzicht van de interpretaties wordt gegeven in onderstaande tabel:

Tabel 6.1.6.: . Interpretatie voor *Mycoplasma pneumoniae* voor staal S/7731

Interpretatie	N laboratoria
Afwezigheid van antistoffen (code 1)	137
Afwezigheid IgM antistoffen ¹	2
Niet suggestief voor een actieve infectie ²	2
Op basis van IgM geen interpretatie mogelijk ³	1
Onbepaald ⁴	1
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een recente infectie (code 2) ⁵	3
Aanwezigheid van (residueel) IgG tegen Mycoplasma. Graag tweede staal na 10-tal dagen, indien CRP+ en neutrofilie ⁶	1
Geen antwoord ⁷	1
Totaal	148

¹ Deze beide laboratoria bepaalden enkel IgM (negatief).

² Het ene laboratorium bepaalde enkel IgM (negatief); het andere IgA en IgM (beide negatief).

³ Dit laboratorium bepaalde enkel IgM (negatief).

⁴ Interpretatie gegeven door het laboratorium dat 2 verschillende resultaten (positief en negatief) bekwam voor de totale As.

⁵ Eén laboratorium bepaalde enkel IgM (positief); de beide andere IgG (negatief) en IgM (positief).

⁶ Dit laboratorium bepaalde IgG (borderline) en IgM (negatief).

⁷ Dit laboratorium bepaalde enkel IgM (negatief).

We dienen nog te vermelden dat 2 van de laboratoria die een afwijkend “technisch” resultaat bekwamen voor één van de testen die zij uitvoerden, toch de interpretatie “Afwezigheid van antistoffen” gegeven hebben (het ene labo bekwam een borderline resultaat voor de IgG en een negatief voor de IgM en totale As; het andere een positief voor de IgM en een negatief voor de totale As.)

133 van de laboratoria die “Afwezigheid van antistoffen” antwoordden, vermeldden een opmerking. Deze opmerkingen worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.7.: Opmerkingen gegeven door de laboratoria die “Afwezigheid van antistoffen” voor *Mycoplasma pneumoniae* voor staal S/7731 geantwoord hebben

Opmerking	N laboratoria
Geen bevestiging nodig	98
Bevestiging door nieuwe afname	27
Bevestiging door complementaire testen	3
Na raadpleging van de aanvragende geneesheer, kan een bevestigingsserologie uitgevoerd worden (IgM en IgG via Elisa)	1
Een nieuwe afname kan nuttig zijn als het begin van de kliniek zeer recent is (1 à 3 dagen)	1
Bij suggestieve kliniek en blijvend diagnostisch probleem, controle serologie na 1-2 weken	1
Een bevestiging kan in overweging genomen worden in functie van de klinische context.	1
Voor de bevestiging van een acute infectie door <i>M. pneumoniae</i> , is het aangewezen om <i>Mycoplasma pneumoniae</i> op te sporen via een moleculair biologische techniek (bvb. Real Time PCR) op een « geprovoceerd » sputum, een BAL (indien geen contra-indicaties)	1
Totaal	148

Voorgestelde complementaire testen:

- PCR op respiratoir staal
- PCR *Mycoplasma* op nasopharyngeale wisser (droge hoest)
- Nieuwe serologie na een tweetal weken en evt. PCR op respiratoir staal

Een aantal laboratoria doen een voorstel omtrent het tijdstip van de nieuwe afname:

- Na 8 dagen: 1 labo
- Na 7-10 dagen: 1 labo
- Na 14 dagen: 1 labo
- Na 2-3 weken: 2 labo's
- Na 2-4 weken: 1 labo
- Na 3-4 weken: 2 labo's

Een aantal laboratoria vermeldden dat ze een aantal testen niet in routine zouden uitvoeren :

- IgM (wel totale AS): 6 labo's
- IgG (wel IgM): 1 labo
- IgA en IgM (wel totale AS): 1 labo
- IgG (wel IgM en totale AS): 1 labo
- 1 IgM (wel 2e IgM en 2 x IgG): 1 labo
- IgG en IgM (enige uitgevoerde testen): 2 labo's
- IgM en IgA (enige uitgevoerde testen): 1 labo

- IgM en totale AS (enige uitgevoerde testen): 1 labo
- IgM (enige uitgevoerde test): 1 labo
- Totale As (enige uitgevoerde test): 2 labo's

6.1.4.2. Staal S/11713

6.1.4.2.1. Totale antistoffen

42 laboratoria bekwamen een positief resultaat (het laboratorium dat de totale As met 2 verschillende kits bepaalde, bekwam een positief resultaat met beide kits). Eén laboratorium bekwam een negatief resultaat.

Kwantitatieve resultaten voor de Serodia-Myco II kit: n gebruikers = 42; mediaan = 1/320 (titer), minimum-maximum: 1/80 – 1/2560 (cut-off: 1/40) (één laboratorium antwoordde een titer 1/80 als negatief).

6.1.4.2.2. IgG

77 laboratoria bekwamen een positief resultaat, 9 een borderline, 7 een negatief en één laboratorium bekwam verschillende (positief en negatief) resultaten met de 2 gebruikte kits.

Voor de kits met een voldoende aantal gebruikers (minimum 6) hebben wij de mediaan, minimum en maximum berekend. U vindt deze gegevens in tabel 6.1.8.

Tabel 6.1.8 Mediaan, minimum en maximum bekomen voor anti-*Mycoplasma pneumoniae* IgG op staal S/11713 voor bepaalde kits

<i>Kit</i>	<i>Aantal labo's</i>	<i>Resultaten</i>	<i>Mediaan</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Cut-off</i>
Liaison Mycoplasma pneumoniae IgG (AU/mL)	19	18+, 1-	24.6	18.9	28.0	10.0
Chorus Mycoplasma pneumoniae IgG (AU/mL)	7 ¹	10+	87.0	56.4	95.2	12.0
Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa (Medac) (AU/mL)	7 ²	6+, 1+/-, 1-	13.0	11.2	20.7	10.0
SeroMP IgG (AU/mL)	26 ³	20+, 6 +/-, 2-	23.0	9.5	36.0	10.0

¹ Tevens antwoordden 3 laboratoria een resultaat > 100 AU/mL.

² Tevens antwoordde 1 laboratorium een resultaat < 9 AU/mL (= labo met de negatieve interpretatie van zijn resultaat).

³ Tevens antwoordden 2 laboratoria een resultaat < 10 AU/mL (= labo's met de negatieve interpretatie van hun resultaat).

6.1.4.2.2. IgM

97 laboratoria bekwamen een positief resultaat, 17 een borderline, 20 een negatief en één laboratorium bekwam verschillende (borderline en negatief) resultaten met de 2 gebruikte kits.

Voor de kits met een voldoende aantal gebruikers (minimum 6) hebben wij de mediaan, minimum en maximum berekend. U vindt deze gegevens in tabel 6.1.9.

Tabel 6.1.9 Mediaan, minimum en maximum bekomen voor anti-*Mycoplasma pneumoniae* IgM op staal S/11713 voor bepaalde kits.

<i>Kit</i>	<i>Aantal labo's</i>	<i>Resultaten</i>	<i>Mediaan</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Cut-off</i>
Mycoplasma pneumoniae IgM EIA (Anilab) (index s/co)	7	5+, 2-	2.0	1.2	2.7	0.5
Liaison Mycoplasma pneumoniae IgM (index s/co)	12 ¹	19+, 1-	23.5	16.0	26.0	10.0
Chorus Mycoplasma pneumoniae IgM (index s/co)	12	12+	2.2	1.4	2.6	0.9
Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa (Euroimmun) (index s/co)	9	1+, 1+/-, 7-	0.8	0.3	1.0	0.8
Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa (Medac) (index s/co)	11	6+, 2+/-, 3-	1.2	0.4	2.1	0.9
SeroMP IgM (AU/mL)	21 ²	21+, 6+/-, 1-	22.3	9.6	30.0	10.0

¹ Tevens antwoordden 8 laboratoria een index >27.0.

² Tevens antwoordden 7 laboratoria een resultaat >27.0 AU/mL

6.1.4.2.4. IgA

Zes laboratoria bekwamen een negatief resultaat en één een borderline.

6.1.4.2.5. Interpretatie

De meeste laboratoria kozen voor “Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie” (code 2). Een aantal laboratoria koos voor een andere optie of stelde een eigen interpretatie voor. Een overzicht van de interpretaties wordt gegeven in onderstaande tabel:

Tabel 6.1.10.: Interpretatie voor *Mycoplasma pneumoniae* voor staal S/11713

Interpretatie	N laboratoria
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie (code 2)	110
Resultaten op de grens van positiviteit, een recente infectie kan niet uitgesloten worden ¹	1
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een niet-actieve infectie (code 3) ²	12
Doorgemaakte infectie met seroconversie IgG ³	1
Mogelijke aanwezigheid van antistoffen, suggestief voor een oude infectie ⁴	1
Aanwezigheid van antistoffen, differentiatie tussen oude en recente infectie vereist bijkomend een Mycoplasma PCR ⁵	1
Recente of oude infectie ⁶	1
De aanwezigheid van IgG en borderline IgA As kan een serologisch spoor zijn van een oude infectie (oud contact) of een teken zijn van een recente infectie ⁷	1
Laag positieve titer, kan wijzen op een beginnende infectie of een resttiter van een oude infectie ⁸	1
Aanwezigheid van antistoffen, mogelijkheid van een recente infectie of van residuele antistoffen na een oude infectie ⁹	1
Aanwezigheid van antistoffen; controlestaal na 2w gewenst om titerverloop te evalueren. ¹⁰	1
Bijkomende staalafname: titerrevolutie IgG /IgA ¹¹	1
Twijfelachtig resultaat. Een tweede serum binnen 8 à 10 dagen is wenselijk voor bevestiging ¹²	1
Staal geeft borderline resultaat voor IgM en IgG. Graag 2de staal ter opvolging ¹³ .	1
Level verdacht als 1 ^e staal vroegtijdig afgenomen is: tweede serum gewenst ¹⁴	1
Interferentie of beginnende infectie? ¹⁵	1
Niet conclusief ¹⁶	1
Borderline IgM ¹⁷	1
Borderline resultaat voor IgM met negatieve IgG. ¹⁸	1
Laag level aan IgM weinig significant ¹⁹	1
Thans onvoldoende serologische evidentie voor een actieve Mycoplasma-infectie. Is CRP +? WBC? ²⁰	1
Geen acute infectie aangetoond ²¹	1
Afwezigheid van antistoffen (code 1) ²²	4
Andere interpretatie, niet gepreciseerd ²³	2
Totaal	148

- ¹ “Technische” resultaten van dit labo: IgG +, IgM-
- ² “Technische” resultaten van deze labo’s:
 - Totale As +: 1 labo
 - IgG +, IgM -: 10 labo’s
 - IgG en IgM +/-, IgA -: 1 labo
- ³ “Technische” resultaten van dit labo: IgG +, IgM +/-
- ⁴ “Technische” resultaten van dit labo: IgG +/-, IgM-
- ⁵ “Technische” resultaten van dit labo: totale As +
- ⁶ “Technische” resultaten van dit labo: totale As +
- ⁷ “Technische” resultaten van dit labo: IgG +, IgM -, IgA +/-
- ⁸ “Technische” resultaten van dit labo: totale As +
- ⁹ “Technische” resultaten van dit labo: IgG +, IgM +
- ¹⁰ “Technische” resultaten van dit labo: IgG + en -, IgM +/- en -
- ¹¹ “Technische” resultaten van dit labo: IgM-
- ¹² “Technische” resultaten van dit labo: totale As +, IgM +/-, IgA -
- ¹³ “Technische” resultaten van dit labo: IgG +/-, IgM +/-
- ¹⁴ “Technische” resultaten van dit labo: totale As +
- ¹⁵ “Technische” resultaten van dit labo: IgG +/-, IgM +
- ¹⁶ “Technische” resultaten van dit labo: IgM +/-
- ¹⁷ “Technische” resultaten van dit labo: IgM +/-
- ¹⁸ “Technische” resultaten van dit labo: IgG -, IgM +/-
- ¹⁹ “Technische” resultaten van dit labo: IgA -, IgM +/-
- ²⁰ “Technische” resultaten van dit labo: IgG +, IgM -
- ²¹ “Technische” resultaten van dit labo: IgA -, IgM -
- ²² “Technische” resultaten van deze labo’s:
 - IgG -, IgM -: 3 labo’s
 - IgM -: 1 labo
- ²³ “Technische” resultaten van deze labo’s:
 - IgG +/-, IgM +/-: 1 labo
 - Totale AS +: 1 labo

108 van de laboratoria die “Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie” antwoordden, vermeldden een opmerking. Deze opmerkingen worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.11.: Opmerkingen gegeven door de laboratoria die “Aanwezigheid van antistoffen suggestief voor een actieve infectie” voor *Mycoplasma pneumoniae* voor staal S/11713 geantwoord hebben.

Opmerking	N laboratoria
Geen bevestiging nodig	56
Bevestiging door nieuwe afname	41
Bevestiging door complementaire testen	6
Bevestiging door complementaire testen en nieuwe afname	3
Bevestiging door nieuwe afname en eventueel ter uitsluiting ook EBV serologie uitvoeren	1
Eventueel controle na 2-3 weken (titerstijging totale antistoffen)	1
Totaal	148

Voorgestelde complementaire testen:

- PCR op respiratoir staal
- PCR Mycoplasma op nasopharyngeaal aspiraat
- PCR op keelwisser
- PCR *M. pneumoniae*
- 4-voudige stijging IgG op convalescente sera (2-3 weken)
- IgG en IgM ELISA (antwoord van labo dat Immunocard Mycoplasma IgM gebruikt)
- IgG en IgM afzonderlijk (antwoord van labo dat enkel totale As bepaalt)
- IgG (antwoord van labo dat enkel IgM bepaalt)

Een aantal laboratoria doen een voorstel omtrent het tijdstip van de nieuwe afname:

- Na 10 dagen: 2 labo's
- Na 2 weken: 5 labo's
- Na 2-3 weken: 4 labo's
- Na 3 weken: 2 labo's
- Na 2-4 weken: 2 labo's
- Na 3-4 weken: 2 labo's
- Na 4 weken: 1 labo

Een aantal laboratoria vermeldden dat ze een aantal testen niet in routine zouden uitvoeren :

- IgA (wel IgM en IgG): 1 labo
- IgG (wel IgM en totale AS): 1 labo
- IgG en IgM (enige uitgevoerde testen): 1 labo
- IgM en IgA (enige uitgevoerde testen): 1 labo
- IgM en totale AS (enige uitgevoerde testen): 1 labo
- IgM (enige uitgevoerde test): 1 labo
- Totale As (enige uitgevoerde test): 2 labo's

6.1.5. Commentaar op de enquête

Staal S/7731. Het betreft een staal met de volgende klinische informatie: "een jonge man raadpleegt zijn arts wegens koorts, keelpijn en een aanslepende droge hoest".

De analytische bepalingen stelden geen noemenswaardige problemen voor dit negatieve staal zowel voor IgM/IgA/IgG als totale antistoffen. De overgrote meerderheid van deelnemers, 93% (137 van 148), hebben als interpretatie "afwezigheid van antistoffen" (code 1) gekozen. De opmerking "geen bevestiging nodig" werd gegeven door 74% (98 van 133) van de laboratoria die "afwezigheid van antistoffen" geantwoord hebben op basis van hun technische resultaten. Nochtans dienen negatieve serologische bevindingen op een eenmalige staalafname met de nodige voorzichtigheid geïnterpreteerd worden. *M. pneumoniae* infecties bij volwassenen verlopen vaak zonder detecteerbare IgM (52%) en IgG (50%) in het acuut serumstaal afgenomen in de eerste week. In de loop van de infectie, pieken IgM rond 3^{de} week en IgG rond 5^{de} week met als gevolg dat convalescente sera verbeterde reactiviteit zowel voor IgM (88%) als IgG (82%) vertonen en dienen afgenomen te worden 2-3 weken na de initiële bepaling. Deze samplingstrategie is vooral van belang bij volwassenen ouder dan 40 jaar die mogelijk geen IgM respons kunnen vertonen, hoogst waarschijnlijk als gevolg van re-infectie.

Volgend standaard commentaar is aan te raden: “in geval van twijfelachtige of negatieve resultaten voor IgG en IgM, is het bij volwassenen > 40 jaar aangewezen een controlestaal binnen 2-3 weken te nemen”.

Staal S/11713. Het betreft een staal met de volgende klinische informatie: “een jonge vrouw biedt zich aan bij haar huisarts met klachten van algemeen onwelzijn, lichte koorts, hoofdpijn, keelpijn en een aanslepende droge hoest”.

Bij de analytische resultaten op dit staal zien we duidelijk het verschil tussen verschillende klassen van antistoffen: totale antistoffen waren positief bij 98% (43 van 44) van de gebruikers, IgG bij 81% (77 van 95), IgM bij 71% (97 van 136) en IgA vertoonde geen positiviteit (0 van 7). Opvallend is ook de interlaboratoriumvariabiliteit tussen zowel IgG (Tabel 6.1.8) als IgM (Tabel 6.1.9) resultaten bij gebruik van dezelfde testkit waardoor verschillende analytische interpretaties (positief versus twijfelachtig versus negatief) werden bekomen. Deze bevindingen illustreren de gekende gebrekkige standaardisatie van serologische testen. Slechts $\frac{3}{4}$ (74%, 110 van 148) van de deelnemende laboratoria verkiezen “aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie (code 2)” als interpretatie. Gezien de gekende verschillen in performantie van serologische methoden en bijzonderheden in het serologisch verloop van *M. pneumoniae* infecties, is een nieuwe staalafname de te verkiezen strategie voor de laboratoria die twijfelachtige of negatieve resultaten hebben bekomen. PCR op een respiratoir staal kan eventueel als aanvullend onderzoek aangeraden worden maar dient geïnterpreteerd te worden in combinatie met de serologische resultaten gezien de controversiële bevindingen betreffende de gevoeligheid van PCR versus serologie. Zowel vals negatieve als vals positieve PCR resultaten werden gerapporteerd in de wetenschappelijke literatuur gerelateerd aan de staalsoortafhankelijke performantie van PCR naast detectie van asymptomatische dragerschap tot 7 maanden postinfectie of vals negativiteit door lage bacteriële ladingen als gevolg van behandeling met antibiotica. Deze combinatie van serologie en PCR betreft de meest betrouwbare benadering voor het opsporen van infecties veroorzaakt door *M. pneumoniae* en is als zodanig opgenomen in internationale richtlijnen.

Elizaveta Padalko, UZ Gent

Referenties

1. Atkinson TP, Balish MF, Waites KB. Epidemiology, clinical manifestations, pathogenesis and laboratory detection of *Mycoplasma pneumoniae* infections. *FEMS Microbiol Rev.* 2008 Nov;32(6):956-73.
2. Daxboeck F, Krause R, Wensch C. Laboratory diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Clin Microbiol Infect.* 2003 Apr;9(4):263-73..
3. Thurman KA, Walter ND, Schwartz SB. et al. Comparison of laboratory diagnostic procedures for detection of *Mycoplasma pneumoniae* in community outbreaks. *Clin Infect Dis.* 2009 May 1;48(9):1244-9.
4. Waites KB, Balish MF, Atkinson TP. New insights into the pathogenesis and detection of *Mycoplasma pneumoniae* infections. *Future Microbiol.* 2008 Dec;3(6):635-48.
5. Woodhead M, Blasi F, Ewig S. et al. Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections. *Clin Microbiol Infect.* 2011 Nov;17 Suppl 6:E1-59.

6.2. HIV

6.2.1. Informatie betreffende de verstuurde stalen

Er werden 2 “klaar-voor-gebruik” stalen (S/5309 en IS/8900) verstuurd voor de bepaling van HIV-antistoffen.

De verwachte resultaten waren:

Staal S/5309 was reactief voor HIV-antistoffen.

Staal IS/8900 was negatief op HIV-antistoffen.

6.2.2. De deelnemers

In het totaal stuurden 166 laboratoria hun antwoordformulier terug: 165 Belgische en Luxemburgse en 1 firmalaboratorium (kit: recomline HIV 1 & HIV 2 IgG (Mikrogen)). Deze laatste werd niet in de verdere verwerking opgenomen maar had wel correcte resultaten.

Onderstaande tabel geeft het aantal uitgevoerde screeningstesten per staal weer. Verschillende laboratoria gebruikten 2 verschillende screeningstesten per staal.

Tabel 6.2.1.: Screeningstesten uitgevoerd voor de bepaling van HIV

<i>Staal</i>	<i>1 test</i>	<i>2 testen</i>	<i>Totaal</i>
S/5309 (N labo's)	145	20	165
IS/8900 (N labo's)	153	12	165

Er werden dus 185 screeningstesten uitgevoerd op staal S/5309 en 177 op staal IS/8900.

Daarnaast vermelden voor beide stalen, 2 deelnemers het resultaat van de Ag p24 test die zij bekwamen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit (bioMérieux) en 2 deelnemers het resultaat bekomen voor het Ag met de Liaison XL Murex HIV Ab/Ag kit (DiaSorin).

Op staal S/5309 bepaalden 2 laboratoria het p24 Ag met de VIDAS HIV p24 II kit (bioMérieux) en één met de Innostest HIV Antigen mAb (Innogenetics); vier laboratoria voerden een confirmatietest uit: drie met de Inno-LIA HIV I/II score (Innogenetics) en één met de HIV-Blot 2.2 (MP Diagnostics).

Op staal IS/8900 hebben twee laboratoria het p24 Ag bepaald met de VIDAS HIV p24 II kit (bioMérieux).

6.2.3. Gebruikte reagentia

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

Tabel 6.2.2.: Réactifs utilisés pour les tests de dépistage du VIH

<i>Fabrikant</i>	<i>Reagens</i>	<i>S/5309</i>	<i>IS/8900</i>
Abbott	Architect HIV Ag/Ab Combo	49	49
	AxSYM HIV Ag/Ab Combo	7	7
Alere Health bioMérieux	PRISM HIV 0 Plus	1	2
	Determine HIV-1/2	1	-
	VIDAS HIV DUO ULTRA	19	15
	VIDAS HIV DUO QUICK	13	9
	Vironostika HIV Ab/Ag	1	1
	Vironostika HIV Uni-Form II Ab/Ag	1	1
BioRad	Access HIV Combo op Unicel Dxl 800 ¹	12	12
	Access HIV 1/2 New op Unicel Dxl 800 ¹	1	1
DiaSorin Ortho Diagnostics	Liaison XL Murex HIV Ag/Ab	6	6
	VITROS Immunodiagnostic Products anti HIV 1+2	14	14
Roche	HIV Combi PT	25	25
	Cobas HIV Combi 2 nd Generation	12	12
	Cobas HIV Combi	5	5
Siemens	Modular HIV Combi	3	3
	ADVIA Centaur EHIV	9	9
	ADVIA Centaur HIV Combo	3	3
	Enzygnost HIV Integral II	2	2
	Enzygnost anti-HIV 1/2 PLUS	1	1
Totaal		185	177

¹ De Access HIV 1/2 New en Access HIV Combo kits worden geproduceerd door de firma BioRad; de bepalingen met deze kits gebeuren op toestellen verdeeld door de firma Analis.

6.2.4. Resultaten

6.2.4.1. Staal S/5309

164 laboratoria bekwamen een reactief resultaat met de screeningstesten (laboratoria die 2 technieken gebruikten bekwamen een reactief resultaat met beide technieken). Eén laboratorium gaf geen antwoord wegens het optreden van een technisch probleem met hun kit (Prism HIV 0 Plus).

Voor de kits met een voldoende aantal gebruikers (minimum 6) hebben wij mediaan, minimum en maximum berekend, voor zover de laboratoria een kwantitatief resultaat geantwoord hebben en in dezelfde eenheden gerapporteerd hebben. Deze resultaten worden weergegeven in tabel 6.2.3. Voor ADVIA Centaur EHIV antwoordden 9 labo's de index >50.

Tabel 6.2.3 Mediaan, minimum en maximum bekomen voor anti-HIV antistoffen op staal S/5309 voor de meest gebruikte kits.

<i>Kit</i>	<i>Aantal labos</i>	<i>Mediaan</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Cut-off voor reactiviteit</i>
Architect HIV Ag/Ab Combo (index S/CO)	48	284.12	234.68	375.00	≥ 1.0
VIDAS HIV DUO QUICK (index)	13	31.25	24.08	36.82	≥ 0.25
VIDAS HIV DUO ULTRA (index)	18	23.81	17.98	28.04	≥ 0.25
Access HIV Combo op Unicef Dxl 800 (index S/CO)	12	331.55	318.00	385.94	≥ 1.0
VITROS ECi anti HIV 1+2 (index)	14	92.85	84.40	105.00	≥ 1.0
Cobas Combi 2 nd generation (index)	12	1300	1135	3053	≥ 1.0
HIV Combi PT	25	2943	2373	3668	≥ 1.0

De 2 laboratoria die het resultaat van de Ag p24 test voor de VIDAS HIV DUO ULTRA kit antwoordden, gaven het antwoord "ND" "Not Determined" weer.

De 2 resultaten van de VIDAS HIV p24 II waren negatief; één laboratorium vermeldde de waarde < 3 pg/mL en één laboratorium de waarde <10.9 pg/mL.

De 2 resultaten van de Liaison XL Murex HIV Ab/Ag kit waren eveneens negatief; één laboratorium vermeldde de waarde 0.33 s/co en één laboratorium de waarde 0.308 s/co.

Ook het resultaat van de Innotest HIV Antigen mAb was negatief.

De resultaten van de Inno-LIA HIV I/II score en de HIV-Blot 2.2 waren allen positief.

6.2.4.2. Staal IS/8900

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat met de screeningstesten (laboratoria die 2 technieken gebruikten bekwamen een negatief resultaat met beide technieken).

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

Alle resultaten van de Ag p24 testen waren negatief.

6.2.4.3. Interpretaties

Er werd gevraagd welke de houding van de laboratoria is ten opzichte van stalen afkomstig van kinderen jonger dan 6 maanden.

1) Is het kind besmet bij positieve test?

- 26 laboratoria antwoorden dat er geen uitspraak mogelijk is.
- 32 laboratoria antwoorden dat er geen uitspraak mogelijk is gezien de mogelijkheid bestaat dat de antistoffen afkomstig zijn van de moeder.
- 12 laboratoria antwoordden dat er geen uitspraak mogelijk is maar dat confirmatietesten nodig zijn.
- 10 laboratoria antwoordden "niet noodzakelijk".
- 24 laboratoria antwoordden "niet noodzakelijk" gezien de mogelijkheid bestaat dat de antistoffen afkomstig zijn van de moeder.
- 4 laboratoria antwoordden "niet noodzakelijk" maar dat confirmatietesten nodig zijn.
- 2 laboratoria antwoordden "mogelijk".
- 5 laboratoria antwoordden "mogelijk" gezien de mogelijkheid bestaat dat de antistoffen afkomstig zijn van de moeder.
- 2 laboratoria antwoordden "mogelijk, doch confirmatietesten zijn nodig om dit te bevestigen".
- 17 laboratoria antwoordden "neen".
- 15 laboratoria antwoordden "neen" gezien de mogelijkheid bestaat dat de antistoffen afkomstig zijn van de moeder.
- 3 laboratoria antwoordden "neen, doch confirmatietesten zijn nodig om dit te bevestigen".
- 5 laboratoria antwoordden "ja".
- 2 laboratoria antwoordden "ja, indien er bevestiging volgt".
- 6 laboratoria hebben de vraag niet beantwoord.

2) Zijn deze stalen (serum) geschikt voor de diagnose?

Tabel 6.2.4.: Antwoorden op vraag 2 van de interpretatie

<i>Antwoord</i>	<i>N laboratoria</i>
Neen	151
Ja	12
Geen antwoord	2
Totaal	165

3) Welk type staal zou u naar een referentielaboratorium versturen?

Tabel 6.2.5.: Antwoorden op vraag 3 van de interpretatie (in **blauw** gehighlightte antwoorden houden staalname bij moeder en kind in)

<i>Type afname</i>	<i>Uit te voeren testen</i>	<i>N laboratoria</i>
EDTA (vol)bloed	PCR HIV (proviraal) DNA	17
	PCR HIV RNA	3
	PCR HIV (proviraal) DNA en PCR HIV RNA	5
	PCR HIV virale lading	2
	PCR HIV	13
	PCR HIV of Ag p24 opsporen	1
	PCR HIV bij geboorte, na 1 en 3 maanden (en evt. na 2 en 6 md.)	2
	PCR HIV bij geboorte, na 1, (2), 3 en 6 md. + virale lading	1
	PCR HIV na 48h, 1, 2 en 3 maanden + PCR HIV RNA	1
	Niet gepreciseerd ¹	20
EDTA (vol)bloed + EDTA plasma	PCR HIV (proviraal) DNA en PCR HIV RNA	3
EDTA (vol)bloed + diepgevroren EDTA plasma	PCR HIV + virale lading	1
EDTA plasma	Virale lading	3
	PCR HIV	1
	PCR HIV + opsporen HIV Ag + blot	1
	Niet gepreciseerd	3
Diepgevroren EDTA plasma	PCR HIV	1
EDTA (vol)bloed of plasma	PCR HIV	1
Afname op EDTA	PCR HIV (proviraal) DNA	6
	PCR HIV (proviraal) DNA + PCR HIV RNA	2
	PCR HIV (proviraal) DNA + virale lading	2
	PCR HIV ²	14
	Virale lading	6

Afname op EDTA + serum	Niet gepreciseerd	6
	PCR HIV + controle serologie	1
	Virale lading + controle serologie	1
	Moeder + kind: HIV Ag + PCR bij kind	1
	PCR HIV DNA kind + moeder + serologische follow-up (WB) tot 18 maand	1
Volbloed	Niet gepreciseerd	3
	PCR (proviraal) HIV DNA	1
	PCR HIV	5
Plasma	PCR HIV op verschillende tijdstippen	1
	Virale lading	1
Serum	PCR	1
	PCR HIV RNA	1
Diepgevroren serum	Serum van kind: HIV Ag + PCR bij kind + serum van moeder	1
	Niet gepreciseerd	2
	Niet gepreciseerd, afname bij kind > 6md.	1
	Niet gepreciseerd, afname bij kind > 18md.	1
	Niet gepreciseerd, serum van moeder en kind.	1
Serum of plasma	PCR viraal genoom HIV	1
	Niet gepreciseerd	1
Diepgevroren EDTA plasma en diepgevroren serum	Niet gepreciseerd	1
	Niet gepreciseerd	1
Type afname niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd	1
	PCR HIV DNA	2
	RT-PCR en/of proviraal DNA	1
	PCR HIV DNA en virale lading	1
	PCR HIV	6
	PCR HIV en/of virusweek	1
	Vergelijking level moeder - kind. Virale lading opsporen	1
Antwoorden in functie van de stalen verstuurd in de EKE	Virus bepaling	1
	Het positieve staal (S/5309)	6
Geen antwoord		4
Totaal		165

¹ Eén laboratorium vermeldt dat het transport op kamertemperatuur moet gebeuren en dat de tube niet geopend mag worden voor de aankomst in het referentiecentrum.

² Eén laboratorium verwijst naar het schema van de AIDS referentie laboratoria België

6.2.5. Commentaar

De testen die door de deelnemende laboratoria uitgevoerd werden, stelden weinig problemen. Daarentegen is onze verbazing groot over de diversiteit van de antwoorden op de vraag naar de neonatale diagnosestelling van de infectie, gezien twee jaar geleden deze zelfde vragen gesteld werden en er toen eenzelfde diversiteit vastgesteld werd.

Wij herhalen hier dus in grote lijnen het commentaar van 2010.

Bij kleine kinderen van een HIV besmette moeder zijn er altijd maternale antistoffen, die tot na 15 maand kunnen aanhouden. De diagnose moet dus beroep doen op andere testen dan de serologische (zie de site van de AIDS referentielaboratoria: <http://www.wiv-isp.be/epidemie/EPIEN/AIDSEN/ARLEN/nindex.html>) en hiervoor is het nuttig stalen naar een AIDS referentielaboratorium te sturen volgens het schema op de site. De belangrijkste test is het opsporen van het proviraal DNA in witte bloedcellen. Hiervoor moet vol bloed op een geschikt anticoagulans afgenomen worden, liefst EDTA (citraat kan ook gebruikt worden maar veroorzaakt een zekere staaldilutie en heparine moet vermeden worden want sporen ervan kunnen de polymerase in de polymerase kettingreactie of PCR inhiberen). Een staal, kort na de geboorte laat dikwijls reeds de diagnose toe, maar mag in geen geval afgenomen worden van de navelstreng, wegens een te hoog risico van contaminatie door het bloed van de moeder. Vervolgens doet men afnames op 1 en 3 maand en eventueel ook op 2 (aanbevolen) en 6 (optioneel). Het is belangrijk een positief resultaat te bekomen op twee onafhankelijke stalen vóór men besluit tot besmetting van het kind. Indien aangewezen, kan de verdere opvolging van een kind dat seronegatief geworden is, gebeuren met klassieke serologie.

Antwoord op de vragen :

- 1) Is het kind besmet bij positieve test? Het antwoord is « nee » of « het is niet mogelijk het uit te maken », want de gebruikte serologische test is niet geschikt en nutteloos. De test kan evengoed positief zijn wegens maternale antistoffen. Het enige mogelijke besluit is dat het kind « at risk » is voor een HIV-infectie (seropositieve moeder).
- 2) Zijn deze stalen (serum) geschikt voor de diagnose? Deze stalen zijn niet geschikt. Er moet bloed afgenomen worden op EDTA om opsporing van het provirale DNA uit te voeren.
- 3) Welk type staal zou u naar een referentielaboratorium versturen? Men stuurt een bloedstaal op EDTA, zoals hierboven uitgelegd. Het AIDS referentielaboratorium zal het proviraal genoom en eventueel het virale RNA opsporen

Laten we om te eindigen, benadrukken dat in ons land, waar de behandeling van de zwangeren toelaat hun virale ladingen te verminderen tot onder het detectieniveau, de transmissie van HIV van moeder op kind uiterst zeldzaam geworden is.

AIDS Referentielaboratoria