

**EXPERTISE, DIENSTVERLENING EN KLANTENRELATIES  
KWALITEIT VAN MEDISCHE LABORATORIA**

**COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE  
COMITE VAN EXPERTEN**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE VOOR  
ANALYSEN KLINISCHE BIOLOGIE**

**DEFINITIEF GLOBAAL RAPPORT**

**MICRO/SERO/PARA**

**ENQUETE 2014/1**

**Microbiologie**

Actinobaculum schaalii  
Listeria monocytogenes  
Staphylococcus aureus  
Streptococcus agalactiae

**Parasitologie**

Plasmodium falciparum  
Plasmodium ovale

**Serologie**

Syfilis  
Influenza-Ag

**ISP-2014/01/Micro/Sero/Para/97**

Expertise, dienstverlening en klantenrelaties  
Kwaliteit van medische laboratoria  
J. Wytsmanstraat, 14  
1050 Brussel | België

[www.wiv-isp.be](http://www.wiv-isp.be)

<b>COMITE VAN EXPERTEN</b>
----------------------------

WIV (secretariaat)	TEL: 02/642.55.22	FAX: 02/642.56.45
Enquêtecoördinator: Dr. VERNELEN K.	TEL: 02/642.55.29 e-mail: <a href="mailto:kris.vernelen@wiv-isp.be">kris.vernelen@wiv-isp.be</a>	
Vervanger enquêtecoördinator: Dr. CHINA B.	TEL: 02/642.53.85 e-mail: <a href="mailto:bernard.china@wiv-isp.be">bernard.china@wiv-isp.be</a>	
<u>Experten:</u>		
Apr. BOEL An	TEL: 053/72.47.85 e-mail: <a href="mailto:an.boel@olvz-aalst.be">an.boel@olvz-aalst.be</a>	FAX: 053/72.45.88
Dr. CLAEYS Geert	TEL: 09/332.36.45 e-mail: <a href="mailto:geert.claeys@ugent.be">geert.claeys@ugent.be</a>	FAX: 09/332.49.85
Dr. DE BEENHOUWER Hans	TEL: 053/72.42.72 e-mail: <a href="mailto:hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be">hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be</a>	FAX: 053/72.45.88
Dr. DE GHELDRE Yves	TEL: 02/340.41.34 e-mail: <a href="mailto:yves.degheldre@chirec.be">yves.degheldre@chirec.be</a>	FAX: 02/340.41.79
Dr. DEDISTE Anne	TEL: 02/535.45.42 e-mail: <a href="mailto:anne_dediste@stpierre-bru.be">anne_dediste@stpierre-bru.be</a>	FAX: /
Dr. DELFORGE Marie-Luce	TEL: 02/555.34.53 e-mail: <a href="mailto:marie-luce.delforge@erasme.ulb.ac.be">marie-luce.delforge@erasme.ulb.ac.be</a>	FAX: 02/555.64.59
Dr. LAGROU Katrien	TEL: 016/34.70.98 e-mail: <a href="mailto:katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be">katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be</a>	FAX: 016/34.79.31
Dr. MAGERMAN Koen	TEL: 011/30.97.40 e-mail: <a href="mailto:koen.magerman@jessazh.be">koen.magerman@jessazh.be</a>	FAX: 011/30.97.50
Dr. NAESSENS Anne	TEL: 02/477.50.02 e-mail: <a href="mailto:anne.naessens@uzbrussel.be">anne.naessens@uzbrussel.be</a>	FAX: 02/477.50.15
Dr. PADALKO Elizaveta	TEL: 09/332.21.08 e-mail: <a href="mailto:elizaveta.padalko@uzgent.be">elizaveta.padalko@uzgent.be</a>	FAX: 09/332.49.85
Dr. REYNDERS Marijke	TEL: 050/45.39.27 e-mail: <a href="mailto:marijke.reynders@azsintjan.be">marijke.reynders@azsintjan.be</a>	FAX: 050/45.26.19
Dr. VAN ESBROECK Marjan	TEL: 03/247.64.37 e-mail: <a href="mailto:mvesbroeck@itg.be">mvesbroeck@itg.be</a>	FAX: 03/247.64.40
Dr. VERROKEN Alexia	TEL: 02/764.67.32 e-mail: <a href="mailto:alexia.verroken@uclouvain.be">alexia.verroken@uclouvain.be</a>	FAX: 02/764.69.33
Dr. WOESTYN Sophie	TEL: 056/85.58.85 e-mail: <a href="mailto:sophie.woestyn@skynet.be">sophie.woestyn@skynet.be</a>	FAX: 056/85.58.86

Expertenvergadering: 10/04/2014

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

[https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external\\_quality/rapports/ nl/rapports\\_annee.htm](https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/ nl/rapports_annee.htm)

**Toestemming verspreiding rapport:** door Kris Vernelen (Enquêtecoördinator) op 25/02/2015



## Inhoudstafel

---

Inhoudstafel .....	3
I. Algemene bemerkingen.....	4
II. Identificaties .....	5
2.1 Cultuur M/4395 Staphylococcus Aureus .....	5
2.2 Cultuur M/11521 Streptococcus agalactiae of ( $\beta$ -hemolytische) streptokok van groep B.....	8
2.3 Cultuur M/12190 Actinobaculum schaalii .....	15
2.4 Cultuur M/12196 Listeria monocytogenes .....	18
III. Resultaten van de identificaties .....	19
3.1 Cultuur M/4395 Staphylococcus aureus (hemocultuur) .....	19
3.2 Cultuur M/11521 Streptococcus agalactiae (hemocultuur) .....	20
3.3 Cultuur M/12190 Actinobaculum schaalii (urine) .....	21
3.4 Cultuur M/12196 Listeria monocytogenes (huidpustels).....	23
IV. Antibioqram.....	24
4.1 Cultuur M/4395 (Staphylococcus aureus) .....	24
4.2 Cultuur M/11521 (Streptococcus agalactiae) .....	32
V. Parasitologie .....	41
5.1 De monsters .....	41
5.2 Staal P/9033 .....	42
5.3 Staal P/12526 .....	44
5.4 Commentaar op de enquête .....	48
VI. Serologie.....	50
6.1 Syfilis serologie.....	50
6.2 Influenza antigeen .....	64

## I. Algemene bemerkingen

---

Voor de 1<sup>e</sup> evaluatie van het jaar 2014 (enquête 2014/1) werd volgend materiaal verzonden op 13 januari 2014.

**1.1 Vier gelyofiliseerde monsters** voor identificatie.

Voor 2 monsters werden de resultaten van de gevoeligheidstesten gevraagd

**1.2 Twee bloeduitstrijkjes** voor parasitologisch onderzoek

**1.3 Twee plasmamonsters** voor de serologie van **syfilis** en 3 stalen voor de bepaling van het **influenza-Ag**.

### AANTAL DEELNEMERS

Het aantal evalueerbare antwoordbulletins bedroeg:

1.	Voor identificatie en antibiogram:	158
2.	Voor parasitologie :	169
3.	Voor de serologie	
	syfilis :	147
	Influenza Ag:	99

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

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

Bacteriologie:

[https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external\\_quality/nl/microbiologie.htm](https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/nl/microbiologie.htm)

en vervolgens klikt u onder "Codes" op "Overzicht verstuurde kiemen"

Parasitologie :

[https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external\\_quality/nl/parasitologie.htm](https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/nl/parasitologie.htm)

en vervolgens klikt u onder "Codes" op "Overzicht verstuurde parasieten"

Infectieuze serologie :

[https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external\\_quality/nl/inf\\_serologie.htm](https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/nl/inf_serologie.htm)

en vervolgens klikt u op "Lijst van de geëvalueerde parameters"

## II. Identificaties

---

### **2.1 Cultuur M/4395 *Staphylococcus Aureus***

Aantal deelnemers = 154

De stam werd door nagenoeg alle laboratoria correct geïdentificeerd tot op speciesniveau. Zij vertoonde het specifieke fenotypische profiel van het species. *S. aureus* stammen die geïsoleerd worden uit hemoculturen moeten als pathogeen beschouwd worden tot bewijs van het tegendeel.

Het antibiogram werd met verschillende technieken (diskdiffusie, automaten,...) uitgevoerd voor penicilline, oxacilline, cefoxitine, gentamicine, de chinolones en vancomycine. Niet alle laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor alle antibiotica.

Het merendeel van de *S. aureus* produceren een penicillinase dat kruisresistentie veroorzaakt tegen penicilline, ampicilline, amoxicilline, piperacilline en ticarcilline. De stammen die geen penicillinase produceren en gevoelig zijn aan oxacilline mogen gerapporteerd worden als gevoelig aan deze antibiotica. De stammen die een penicillinase produceren en gevoelig zijn aan oxacilline, zijn gevoelig aan de combinatie van deze antibiotica met een penicillinase-inhibitor (clavulaanzuur of tazobactam).

EUCAST raadt aan om de gevoeligheid voor penicilline te testen met een penicillineschijfje (1 µg) maar raadt af om de MIC te bepalen of om de aanwezigheid van een penicillinase op te sporen met een chromogene test. Stammen met een inhibitiezone kleiner dan 26 mm moeten als resistent geantwoord worden, net als de stammen met een diameter groter dan of gelijk aan 26 mm **EN een duidelijk afgelijnde inhibitierand**. De stammen met een diameter groter dan 26 mm en een vaag afgelijnde inhibitierand mogen gevoelig geantwoord worden. In geval van twijfel is het aangeraden de stam als resistent te antwoorden.

De correcte bepaling van de gevoeligheid voor oxacilline is noodzakelijk om de clinicus te begeleiden in zijn therapiekeuze en voor de ziekenhuishygiënist om de aanbevelingen toe te passen met betrekking tot de controle en de preventie van de transmissie van methicilline resistente *S. aureus* (MRSA) (BICS online).

De resistentie tegen oxacilline is gelinkt aan het verwerven van een « Penicillin Binding Protein », PBP2a, met een geringe affiniteit voor de beta-lactam antibiotica. De synthese van het PBP2a wordt gecodeerd door het *mec* gen dat geïntegreerd is in een bijkomend fragment van het chromosoom van de Stafylokok dat Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*) genoemd wordt. Er werden bij *S. aureus* 2 varianten, *mecA* et *mecC*, beschreven die minder dan 70% homologie vertonen. Het verwerven van het PBP2a leidt tot een kruisresistentie tegen alle beta-lactam antibiotica met uitzondering van de nieuwe anti-MRSA cefalosporines (ceftaroline, ...). De fenotypische expressie van de resistentie kan variëren. De resistentie kan op homogene manier tot expressie gebracht worden waarbij de hele populatie de resistentie tot expressie brengt; of op een heterogene manier, waarbij slechts een deel van de populatie (1 bacterie op 10<sup>4</sup> tot 10<sup>7</sup>) deze resistentie tot

expressie brengt. De detectie van de heterogene resistentie kan een probleem vormen voor de laboratoria.

Sinds meerdere jaren raadt EUCAST aan om de gevoeligheid voor oxacilline te testen met een cefoxitineschijfje van 30 µg (gevoelig als de inhibitiezone  $\geq 22$  mm is, resistent als de inhibitiezone  $< 22$  mm is) op een Mueller-Hinton bodem (MH) die niet aangerijkt werd met NaCl en die gedurende  $18 \pm 2$  uur geïncubeerd wordt op  $35^\circ\text{C}$  ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ). Het cefoxitineschijfje is gevoeliger dan het oxacillineschijfje om hetero-resistente *S. aureus* stammen op te sporen. De automaten testen cefoxitine om de gevoeligheid voor oxacilline te bepalen. Confirmatie van de stammen kan gebeuren door de detectie van het PBP2a met een agglutinatie- of immunochromatografische test. De *mecC* kunnen vals negatieve resultaten geven als er geen voorafgaande inductie van de stam gebeurd is. De PCR voor de detectie van oxacilline-resistentie moeten de verschillende varianten van *mecA* en *mecC* detecteren.

Uit de testen van het referentiecentrum bleek dat de stam het « wild-type » profiel vertoonde, dat gevoelig is voor vele antibiotica. De meeste laboratoria hebben een correct antwoord gegeven voor alle geteste antibiotica. Achttien laboratoria hebben geantwoord dat de stam resistent is tegen penicilline, hetgeen, in geval van twijfel, aanbevolen wordt door EUCAST.

Olivier Denis, Magali Dodémont, Claire Nonhoff, Sandrine Roisin, Stien Vandendriesche. Nationaal referentiecentrum voor Stafylokokken en MRSA

## Referenties

---

Deplano A, Vandendriessche S, Nonhoff C, Denis O. (2014). Genetic diversity among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates carrying the *mecC* gene in Belgium. J Antimicrob Chemother. 69:1457-60.

Felten A, Grandry B, Lagrange PH, Casin I. (2002). Evaluation of three techniques for detection of low-level methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a disk diffusion method with ceftioxin and moxalactam, the Vitek 2 system, and the MRSA-screen latex agglutination test. J Clin Microbiol. 40:2766-71.

Maes N, Magdalena J, Rottiers S, De Gheldre Y, Struelens MJ. (2002). Evaluation of a triplex PCR assay to discriminate *Staphylococcus aureus* from coagulase-negative Staphylococci and determine methicillin resistance from blood cultures. J Clin Microbiol. 40:1514-7.

Mencacci A, Montecarlo I, Gonfia F, Moretti A, Cardaccia A, Farinelli S, Pagliochini MR, Giuliani A, Basileo M, Pasticci MB, Bistoni F. (2009). Comparison of the BD Phoenix system with the ceftioxin disk diffusion test for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. J Clin Microbiol. 47:2288-91.

Nonhoff C, Roisin S, Hallin M, Denis O. (2012). Evaluation of Clearview Exact PBP2a, a new immunochromatographic assay, for detection of low-level methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LL-MRSA). J Clin Microbiol. 50:3359-60.

Roisin S, Nonhoff C, Denis O, Struelens MJ. (2008). Evaluation of new Vitek 2 card and disk diffusion method for determining susceptibility of *Staphylococcus aureus* to oxacillin. J Clin Microbiol. 46:2525-8.

### Online referenties

#### **Belgian Infection Control Society**

<http://www.belgianinfectioncontrolociety.be/> (01 July 2014, date last accessed)

#### **EUCAST - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing**

<http://www.eucast.org/> (01 July 2014, date last accessed)

## **2.2 Cultuur M/11521 *Streptococcus agalactiae* of ( $\beta$ -hemolytische) streptokok van groep B**

Aantal deelnemers = 158

*Streptococcus agalactiae* is de species die de streptokokken aanduidt die behoren tot de groep B van Lancefield (GBS). Zijn identificatie stelt over het algemeen geen probleem zoals de resultaten van deze enquête bewijzen: de stam werd correct geïdentificeerd door de meerderheid van de laboratoria.

Deze species werd reeds beschreven in de rapporten van de enquêtes 2005/2, 2008/1 en 2010/1 waarnaar wij verwijzen voor details over de identificatiekarakteristieken, de routinekweken of de culturen in het kader van screening van rectovaginale kolonisatie. We moeten wel opmerken dat sinds het 1<sup>e</sup> rapport, de MALDI-TOF massaspectrometrie in vele laboratoria een belangrijke plaats verworven heeft als identificatietechniek en dat deze gevalideerd is voor de identificatie van *Streptococcus agalactiae*.

Ter herinnering:

GBS zijn commensale kiemen van de intestinale (belangrijkste reservoir) en genitale tractus. De vaginale kolonisatie is meestal asymptomatisch. In 2014, zijn de GBS nog steeds de 1<sup>e</sup> verwekker van ernstige infecties bij pasgeborenen en dit ondanks de efficiëntie van de preventiestrategieën voor perinatale infecties. Ze kunnen ook verantwoordelijk zijn voor invasieve infecties bij de volwassene tijdens of buiten de zwangerschap (1-5).

Om vroegtijdige neonatale infecties te voorkomen werden verschillende strategieën voorop gezet. Momenteel zijn de aanbevelingen in België, zoals in Noord-Amerika en vele Europese landen, om intrapartum I.V. antibiotica toe te dienen aan risicopatiëntes (6,7). Dit risico bestaat uit een rectovaginale kolonisatie door GBS, die geïdentificeerd werden tijdens een algemene screening uitgevoerd bij alle zwangere vrouwen tussen de 35<sup>e</sup> en 37<sup>e</sup> zwangerschapsweek. Omwille van zijn efficiëntie en smal spectrum blijft penicilline de voorkeurstherapie voor intrapartum profylaxe. Alternatieven in geval van penicilline-allergie zijn: cefazoline voor patiëntes met laag anafylactisch risico, clindamycine op voorwaarde dat de stam gevoelig is voor patiëntes met een IgE gemedieerde penicilline-allergie. Indien de stam resistent is tegen clindamycine of als de gevoeligheid niet gekend is, is in dit laatste geval vancomycine het aanbevolen alternatief (6,8).

Voor de behandeling van invasieve infecties van de pasgeborenen, de volwassenen of elke andere patiënt blijft penicilline de voorkeurstherapie. De behandeling kan empirisch gestart worden met een breder spectrum antibioticum maar van zodra de identificatie van de GBS bevestigd is kan overgeschakeld worden naar penicilline. De dosering en duur van de behandeling zijn afhankelijk van het soort infectie. (2-4)

Asymptomatische kolonisatie, zelfs tijdens de zwangerschap moet niet behandeld worden, maar voor elke zwangere moet een intrapartum antibioticaprofylaxe voorzien worden (6,7).

Momenteel zijn er 10 kapsel serotypes beschreven (Ia, Ib, en II tot IX). Vooral serotype III is belangrijk omdat deze verantwoordelijk is voor ongeveer 50% van de vroegtijdige neonatale infecties en het grootste deel van de laattijdige neonatale



infecties. Binnen de stammen van serotype III, wordt « Sequence Type » ST-17 teruggevonden bij hypervirulente stammen (9,10).

De typering van de kapsel polysachariden, evenals andere typeringsmethoden zijn epidemiologisch zeer belangrijk met name voor de samenstelling van de vaccins die momenteel ontwikkeld worden. Omwille van deze epidemiologische surveillance vragen wij aan alle laboratoria aan ALLE invasieve stammen naar het Nationaal Referentie Centrum voor GBS te sturen (ter informatie 101 laboratoria op 158 zouden deze stam niet naar het NRC gestuurd hebben !).

## **Gevoeligheid voor antibiotica**

### ***Gevoeligheid voor penicilline en $\beta$ -lactam antibiotica :***

*S. agalactiae* blijft gevoelig voor de  $\beta$ -lactams. In een routinelaboratorium laat de bepaling van de gevoeligheid voor penicilline toe om te een besluit te trekken over de gevoeligheid voor andere  $\beta$ -lactams met inbegrip van cefalosporines en carbapenems (EUCAST 2014 en CLSI 2014) (11,12). EUCAST 2014 en CLSI 2014 bevelen aan om de gevoeligheidsbepaling te herhalen van een stam die niet gevoelig lijkt aan penicilline en om dit resultaat steeds te laten bevestigen door het referentiecentrum. Sinds enkele jaren worden er inderdaad stammen met een verminderde gevoeligheid voor penicilline, ampicilline en cefalosporines (PR-GBS) beschreven, eerst in Japan nadien in de Verenigde Staten en Canada, en recent in Argentinië (13,14). Deze verworven gevoeligheidsvermindering is te wijten aan een substitutie van de aminozuren in de genen die coderen voor PBP2X en PBP1A. De MIC-waarden van penicilline van de PR-GBS variëren van 0,25 tot 1 mg/L maar de MIC-waarden van de cefalosporines liggen hoger. Tot nu toe lijkt deze verminderde gevoeligheid geen klinisch probleem te vormen maar we moeten vrezen voor het verschijnen van stammen met hoge MIC-waarden voor de 3<sup>e</sup> generatie cefalosporines en een verhoging van de MIC-waarde voor penicilline zoals bij *Streptococcus pneumoniae*. Een ander, meer verontrustend probleem is het niet herkennen van de stammen met verminderde gevoeligheid. De gebruikelijke fenotypische methoden die de gevoeligheid voor penicilline testen via diskdiffusie laten inderdaad niet toe om deze stammen te identificeren. Het gebruik van 3 schijfjes van oxacilline, ceftizoxime en ceftibuten lijkt efficiënt te zijn om ze te identificeren : gewoonlijk vertonen de PR-GBS stammen geen inhibitie zone rond het ceftibuten-schijfje en hebben verhoogde MIC-waarden voor oxacilline en ceftizoxime (15). De referentielaboratoria volgen het eventuele verschijnen van deze resistentie op.

### ***Resistentie tegen macroliden en lincosamiden :***

Zoals bij vele streptokokken species werd ook bij de GBS een belangrijke toename van de resistentie tegen clindamycine vastgesteld (16,17). Het vastgestelde resistentieniveau vertoont een variatie in tijd en geografische verspreiding met name in relatie tot het gebruik van macroliden in de ambulante geneeskunde en kan 30 tot 40% bereiken (9).

In België, toonde de surveillance van de resistentie tegen erythromycine en clindamycine van de invasieve GBS die naar het NRC gestuurd worden, in 2012 een lichte afname met 26% resistente stammen tegen erythromycine en 24,5% tegen clindamycine. Een minderheid van de erythromycine-resistente stammen, 8%, vertoonden een geïsoleerde resistentie via een mechanisme van actieve efflux dat gecodeerd wordt door het *mef* gen. De meerderheid van deze stammen vertonden een MLS fenotype, met andere woorden resistentie tegen macroliden, lincosamiden en streptograminen.

Deze resistentie is het gevolg van een wijziging van de target ter hoogte van de bindingssite, die gecodeerd wordt door genen van de *erm* familie. Men onderscheidt

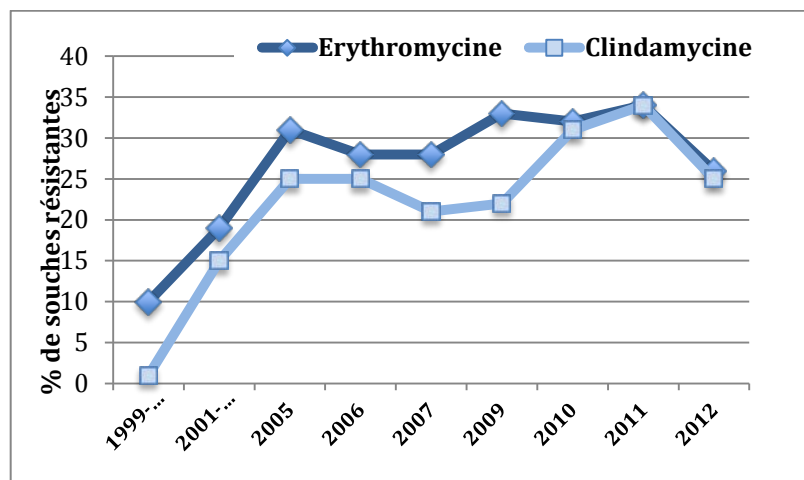
het constitutief MLS fenotype (stammen die tegelijkertijd resistent zijn tegen erythromycine en clindamycine, cMLS) en het induceerbaar MLS fenotype (stammen resistent tegen erythromycine en clindamycine; de resistentie wordt in vitro enkel gedetecteerd in aanwezigheid van erythromycine, iMLS); deze groepen bedragen respectievelijk 64,93% en 27,02% van de GBS stammen die resistent zijn tegen erythromycine (16,18-19).

In 2012, werd een nieuw fenotype, dat reeds gekend was in Azië en Nieuw-Zeeland (20) teruggevonden bij de Belgische stammen. Het betreft het "L" fenotype, dat gekenmerkt is door resistentie tegen lincosamiden die niet gepaard gaat met resistentie tegen macroliden. In het algemeen wordt deze resistentie veroorzaakt door genen van de familie van de nucleotidyl transferasen (*InuB* en *InuC*). Deze genen werden niet teruggevonden in de Belgische stammen met het "L" fenotype die het NRC ontving. Daarentegen werd het *IsaC* gen aangetoond en dit codeert voor een ander "L" fenotype het LS<sub>A</sub> of LS<sub>A</sub>P dat tot uiting komt door een kruisresistentie tegen lincosamiden, streptogramine A en pleuromutilline (een antibioticum dat in de diergeneeskunde gebruikt wordt). Dit fenotype werd in 2011 in Nieuw-Zeeland beschreven (20). Dit nieuwe "L" fenotype wordt teruggevonden bij 0,6 % van de stammen die sinds 2008 naar het NRC verzonden werden (21).

Voor de bepaling van de induceerbare resistentie tegen clindamycine, raden zowel EUCAST als CLSI aan om op de erythromycine-resistente stammen systematisch de D-test via diskdiffusie uit te voeren. Laboratoria die een methode op vloeibaar milieu gebruiken, met in begrip van de geautomatiseerde systemen, zouden eveneens over een diffusie D-test dienen te beschikken (11,12). Van stammen met een positieve D-test veronderstelt men dat ze een induceerbare resistentie tegen clindamycine hebben en ze worden beschouwd als resistent tegen dit antibioticum. Zelden kan een geïsoleerde resistentie tegen clindamycine zonder erythromycine-resistentie vastgesteld worden. Dit zeldzaam fenotype komt wel degelijk voor in ons land; voor deze stammen moet de vastgestelde gevoeligheid voor erythromycine niet gewijzigd worden. Dit fenotype werd recent geïdentificeerd en blijft zeldzaam; het wordt niet herkend door het expertsysteem van de Vitek dat aanraadt om het resultaat voor erythromycine te wijzigen zoals voor een constitutief MLS<sub>B</sub> fenotype.

De evolutie van de resistentie van GBS tegen erythromycine en clindamycine in België tussen 1999 en 2012 wordt weergegeven in onderstaande figuur.

**Figuur :** Evolutie van de resistentie tegen erythromycine en clindamycine van de GBS stammen geïsoleerd uit diepe infecties bij de pasgeborenen en volwassenen, van 1999 tot 2012 (gegevens van het referentiecentrum voor streptokokken van groep B, activiteitenrapport 2012) (16)



### **Diverse resistenties en gevoeligheden :**

#### **Fluorochinolonen :**

Sinds 2003 worden in Japan, Korea en China stammen beschreven die resistent zijn tegen de fluorochinolonen, (22-24). In 2013, vermeldde een studie 37% resistentie tegen fluorochinolonen bij Chinese stammen. In Europa en Noord-Amerika blijft het resistentieniveau tegen fluorochinolonen zeer beperkt (0 à 5%; 2% tegen levofloxacin en 1,35 % tegen moxifloxacin bij de invasieve stammen die in 2012 in België geïsoleerd werden, gegevens van het NRC voor GBS). De resistenties zijn te wijten aan substituties van aminozuren in de genen van de gyrasen en topoisomerasen. In China grijpt er momenteel een verspreiding plaats van een multiresistente GBS-kloon die resistentie vertoont tegen fluorochinolonen en eveneens drager is van resistentiegenen tegen macroliden en lincosamiden (24).

#### **Vancomycine :**

Alle stammen zijn gevoelig voor vancomycine.

#### **Tetracyclinen :**

Meer dan 85% van de GBS-stammen zijn resistent tegen de tetracyclinen. Deze resistente stammen die behoren tot klonen die de mensen besmetten, zouden uitgeselecteerd zijn door het intensieve gebruik van tetracyclinen sinds 1948 (25). Enkele tetracycline-resistente klonen, die uitzonderlijk goed aangepast zijn aan hun gastheer, hebben de gevarieerde populatie van GBS vervangen en zijn verantwoordelijk aan het opduiken van neonatale infecties (25).

#### **Aminoglycosiden :**

GBS zijn intrinsiek resistent tegen de aminoglycosiden en monotherapie met een aminoglycoside heeft geen effect, maar er is een synergie mogelijk met de penicillinen of glycopeptiden als de stammen geen high-level resistentie vertonen. Voor sommige ernstige infecties, zoals endocarditis door GBS, kan een aminoglycoside korte tijd worden toegediend in combinatie met een  $\beta$ -lactam. Zoals voor de enterokokken kan een high-level resistentie worden vastgesteld. In een recente studie (2013), in Argentinië, vertoonden 13% van de stammen dergelijke high-level resistentie tegen gentamicine (26).

Het onvermijdelijke verschijnen van resistente stammen en de verspreiding van multi-resistente stammen vormen een bedreiging zowel voor de antibiotische profylaxe als voor de behandeling, en wijzen op de noodzaak van epidemiologische surveillance en het belang van good laboratory practice voor het uitvoeren van antibiogrammen.

### **Commentaar op het antibiogram van de streptokokken van groep B**

Het mogelijke verschijnen van stammen met een verminderde gevoeligheid voor  $\beta$ -lactams evenals de vastgestelde resistentieniveaus tegen erythromycine en clindamycine rechtvaardigen de noodzaak om een antibiogram uit te voeren wanneer een antibiotische profylaxe of behandeling gepland worden. Voor de bepaling van de gevoeligheid voor  $\beta$ -lactams, blijft penicilline de aangewezen molecule en het resultaat kan geëxtrapoleerd worden naar alle  $\beta$ -lactams (met uitzondering van fenoxymethylpenicillinen en isoxazolylicillinen), met inbegrip van de cefalosporinen en carbapenems. EUCAST geeft enkel voor penicilline interpretatiecriteria (11). Voor GBS die geen  $\beta$ -lactamase produceren levert het toevoegen van een  $\beta$ -lactamase-inhibitor geen voordeel op.

Erythromycine kan gebruikt worden voor de bepaling van de gevoeligheid voor azithromycine, clarithromycine en roxithromycine. Het opsporen van induceerbare resistentie tegen clindamycine kan uitgevoerd worden door een antagonisme-test van de activiteit van clindamycine in aanwezigheid van een macrolide. Voor het uitvoeren van deze test, plaatst men de erythromycine en clindamycine-schijfjes op een afstand van 14-16 mm (rand tot rand) en spoort men een antagonisme op (D test). Als men een antagonisme vaststelt, rapporteert men een induceerbare resistentie waaraan men het volgende commentaar kan toevoegen : « *Clindamycine zou kunnen gebruikt worden voor een korte behandeling of voor weinig ernstige infecties van de huid en de weke weefsels gezien de ontwikkeling van een constitutieve resistentie weinig waarschijnlijk is tijdens een dergelijke behandeling* »

### **Moet men systematisch een antibiogram uitvoeren op GBS-isolaten die tijdens een screening voor prenatale kolonisatie vastgesteld worden?**

In België, en dit ter vermindering van het aantal vrouwen die gekoloniseerd werden door GBS en die allergisch zijn aan penicilline waarvoor de gevoeligheid voor clindamycine niet bepaald werd, zullen de nieuwe aanbevelingen van de Hoge Gezondheidsraad (publicatie verwacht voor de 1<sup>e</sup> semester van 2015) voorstellen om systematisch de gevoeligheid voor penicilline, erythromycine en clindamycine te bepalen voor alle GBS-stammen die aangetoond worden in antenatale afnames.

*P.Melin (CHU de Liège, Centre National de Référence de Streptococcus agalactiae)*

## Referenties

---

1. Anthony BF, Okada DM, Hobel CJ. Epidemiology of group B streptococcus: longitudinal observation during pregnancy. *J Infect Dis* 1978;**137**:524-30
2. Baker C. Group B streptococcal infections. In: Stevens DL, Kaplan EL, eds, *Streptococcal infections*. New York, NY: Oxford University Press, 2000; p.222–237.
3. Schuchat A, 1999. Group B streptococcus. *Lancet* **353**:51-6
4. Streptococcal infections. In *Streptococcal Infections – Clinical aspects, Microbiology, and molecular pathogenesis*, Edited by Steves DL and Kaplan EL, Oxford University Press 2000 ; 221-37
5. Sendi P, Johansson L, Norrby-Teglund A. Invasive Group B Streptococcal Disease in Non-pregnant Adults: A Review with Emphasis on Skin and Soft-tissue Infections. *Infection* 2008, **36**:100–111
6. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal Group B streptococcal disease. Revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR* 2010; 59 (RR-10): 32.
7. Superior Health Council. Guidelines from the Belgian Health Council, 2003 (SHC 7721): Prevention of perinatal group B streptococcal infections. Brussels, Belgium: Service Public Federal Sante publique, Securite de la Chaine alimentaire et Environnement, 2003 (In English, in French, in Dutch).
8. G. C. Di Renzo, P. Melin, A. Berardi, et Al. Intrapartum GBS screening and antibiotic prophylaxis: a European consensus conference *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2014 August 27 : 1–17 (Epub ahead of print)
9. Melin P, Efstratiou A. [Group B streptococcal epidemiology and vaccine needs in developed countries.](#) *Vaccine*. 2013 Aug 28;31 Suppl 4:D31-42. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.05.012. Review.
10. Bellais S, Six A, Fouet A, Longo M, Dmytruk N, Glaser P, Trieu-Cuot P, Poyart C. Capsular switching in group B streptococcus CC17 hypervirulent clone: a future challenge for polysaccharide vaccine development. *J Infect Dis* 2012;206:1745-52.
11. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 4.0, 2014. <http://www.eucast.org>."
12. CLSI – *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing; Twenty-Third Informational Supplement*. CLSI document M100-S23. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013
13. Kimura K, Suzuki S, Wachino J, et al. First molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2008, **52**:2890-2897
14. Dahesh S, Hensler ME, Van Sorge NM, Gertz RE, Schrag SN, Zet V and Beall BW. Point Mutation in the Group B Streptococcal *pbp2x* Gene Conferring Decreased Susceptibility to  $\beta$ -Lactam Antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, **52**:2915–2918
15. Kimura K, Wachino J, Kurokawa H. et al. Practical Disk Diffusion Test for Detecting Group B Streptococcus with Reduced Penicillin Susceptibility. *J Clin Microbiol* 2009, **47**: 4154–4157
16. Sacheli R et Melin P. Centre National de Référence *Streptococcus agalactiae – Rapport d'activités 2012*
17. Melin P. Table 3O Resistance of Streptococcus agalactiae in Belgium. In: SBIMC-BVIKM ed. *The Sanford guide to antimicrobial therapy*, 23<sup>rd</sup> edition of the Belgian/Luxembourg Version 2012-2013. Brussels, Belgium: Societe Belge d'Infectiologie et de Microbiologie Clinique – Belgische Vereniging voor Infectiologie en Klinische Microbiologie, 2012: 178-9.

18. Melin, P., Sacheli, R., Sarlet, G., Meex, C., Descy, J., Huynen, P., & Hayette, M.-P. (2013). Surveillance of serotypes and antimicrobial susceptibility profile in group B streptococcus (GBS) in Belgium. *Program and Abstract of the 53rd Intersciences Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington, USA: ASM. Washington, USA: ASM.*
19. Descy, J., Ackermans, Y., Boreux, R., Meex, C., Rémont, L., Rodriguez Cuns, G., & Melin, P. (2012). Phenotypical and genotypical surveillance of macrolide and lincosamide resistance in group B streptococcus in Belgium. *Program and Abstract of the 52nd Intersciences Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington, USA: ASM*
20. Malbruny B., Werno AM., Murdoch DR., Leclercq R. and Cattoir V. Cross-Resistance to Lincosamides, Streptogramins A, and Pleuromutilins Due to the *Isa(C)* Gene in *Streptococcus agalactiae* UCN70. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011: 1470–1474
21. Descy J., Trus C., Verlaine O., Kovacs S., Meex C., Amoroso A., Joris B. and Melin P. (2014) First detection of *IsaC* gene in clinical isolates of clindamycin-resistant erythromycin-susceptible *Streptococcus agalactiae* from Belgium. *XIX Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases, Program and Abstract book. (#100)*
22. Kawamura Y, Fujiwara H, Mishima N, Tanaka Y, Tanimoto A, Ikawa S, et al. First *Streptococcus agalactiae* isolates highly resistant to quinolones, with point mutations in *gyrA* and *parC*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003, 47:3605–9
23. Ki M. Srinivasan U, Oh KY., Kim MY., Shin JH., Hong HL. Dang T., Britt Z. Foxman B. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2012, 31:3199-3205 DOI 10.1007/s10096-012-1685-8
24. Hui Wang et al. High Prevalence of Fluoroquinolone-Resistant Group B Streptococci among Clinical Isolates in China and Predominance of Sequence Type 19 with Serotype III. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57:1538-41
25. Da Cunha V, Davies MR, Douarre PE, Rosinski-Chupin I, Margarit I, Spinali S, Perkins T, Lechat P, Dmytruk N, Sauvage E, Ma L, Romi B, Tichit M, Lopez-Sanchez MJ, Descorps-Declere S, Souche E, Buchrieser C, Trieu-Cuot P, Moszer I, Clermont D, Maione D, Bouchier C, McMillan DJ, Parkhill J, Telford JL, Dougan G, Walker MJ; DEVANI Consortium, Holden MT, Poyart C, Glaser P. *Streptococcus agalactiae* clones infecting humans were selected and fixed through the extensive use of tetracycline. *Nat Commun*. 2014 Aug 4;5:4544. doi: 10.1038/ncomms5544
26. Villar HE., Jugo MB. Emergence of high-level resistance to gentamicin and streptomycin in *Streptococcus agalactiae* in Buenos Aires, Argentina (Emergencia de *Streptococcus agalactiae* con resistencia de alto nivel a gentamicina y estreptomycin en Buenos Aires, Argentina) *Rev Esp Quimioter* 2013;26:112-115.

### **2.3 Cultuur M/12190 *Actinobaculum schaalii***

Deze stam werd opgestuurd als didactische stam. 76 van de 161 laboratoria identificeerden de stam correct tot op species niveau.

#### *Taxonomie*

*Actinobaculum schaalii* is verwant aan *Actinomyces* en *Arcanobacterium* species. Het genus werd voor het eerst beschreven in 1997 op basis van fylogenetisch onderzoek. Andere species binnen het genus zijn *Actinobaculum suis* (enkel pathogeen voor varken en niet voor de mens) en *Actionobaculum urinale* (humane pathogeen).

#### *Identificatie*

*Actinobaculum schaalii* is een gram positieve bacterie, coccoïd of staafvormig, soms licht gebogen en soms licht vertakt. Ze is katalase negatief, niet zuurvast en facultatief anaeroob. Na 48 uur incubatie op bloedagar bij 5 % CO<sub>2</sub> of anaeroob, ziet men dikwijls twee soorten grijze kolonies met verschillende grootte. De resultaten van de biochemische testen, uitgevoerd door middel van API ZYM, API Coryne API rapid ID 32 STREP en API rapid ID 32A werden beschreven in de oorspronkelijke publicatie maar zijn niet geschikt om de species te onderscheiden van andere soorten. Met RAPID ID 32 A bekomt men meestal een code 04XXX77717 (X betekent dat elke reactie mogelijk is voor de betreffende testen) maar de identificatie *Actinobaculum schaalii* is niet opgenomen in de lijst van mogelijke identificaties. 5 deelnemers antwoordden *Gardnerella vaginalis*. Dit komt overeen met onze ervaring in het eigen laboratorium, wanneer we klinische stammen van *Actionobaculum schaalii* identificeerden met behulp van API Coryne.

Momenteel wordt aangeraden om de identificatie uit te voeren door middel van Maldi-tof of sequencing van het 16 s rRNA gen. Indien men over deze technieken niet beschikt, dan is het bij relevante isolaten, waarbij *Actinobaculum schaalii* wordt vermoed, zeker aangeraden om de stammen op te sturen naar een ander laboratorium voor identificatie. Volgens onze enquête gebeurt dit momenteel niet systematisch.

#### *Kliniek*

Sinds de beschrijving van de species zijn er meerdere rapporten en overzichtsartikelen, die aantonen dat *Actinobaculum schaalii* een belangrijke pathogeen is voor de mens. Het merendeel van de eerste gepubliceerde klinische gevallen betroffen urineweginfecties met positieve bloedkweken. Typische gevallen zijn: patiënten met herhaalde urineweginfecties, die niet goed beantwoorden aan behandeling met co-trimoxazol en ciprofloxacine. *Actinobaculum schaalii* kan ook voorkomen als commensaal van de urogenitale slijmvliezen zonder klachten. Bijbesmetting van de urine zonder infectie is dus mogelijk. Infectie gaat normaal gepaard met verhoging van het aantal witte bloedcellen in de urine. Er zijn meerdere publicaties waarbij andere infecties door *Actinobaculum schaalii* worden beschreven, zoals cellulitis, osteomyelitis, spondylodiscitis en endocarditis. *Actionobaculum schaalii* wordt nu beschouwd als één van de verwekkers van het syndroom van Fournier.

### *Diagnose van een urineweginfectie door Actinobaculum schaalii*

Vooreerst zal men er moeten aan denken. *Actinobaculum schaalii* moet worden opgenomen in de lijst van mogelijke uropathogenen die men opspoot in het klinisch laboratorium.

Bij patiënten met herhaalde urineweginfecties of met urineweginfecties die niet goed reageren op een behandeling met co-trimoxazol of ciprofloxacin, zou er een gramkleuring en een kweek op bloedagar met 48 uur incubatie bij 5% CO<sub>2</sub> moeten gebeuren.

In het beste geval wordt voor elke patiënt met een vermoeden van een urineweginfectie een urinekweek uitgevoerd op bloedagar met 48 uur incubatie bij 5% CO<sub>2</sub>. *Actinobaculum schaalii* is in het bijzonder verdacht als bij gramkleuring van de urine kleine grampositieve staafjes worden gezien.

Identificatie gebeurt door Maldi-tof of sequencing van het 16S rRNA.

### *Gevoeligheid voor antibiotica en behandeling*

*Actinobaculum schaalii* is resistent tegen co-trimoxazol en ciprofloxacin. Behandeling met beta-lactam antibiotica wordt aangeraden.



## Referenties

---

Lawson P.A., Falsen E., Akervall E., Vandamme P., Collins M.D. Characterization of some Actinomyces-like isolates from human clinical specimens: reclassification of *Actinomyces suis* (Soltys and Spratling) as *Actinobaculum suis* comb. nov. and description of *Actinobaculum schaalii* sp. nov. , *International Journal of Systematic Bacteriology*, July 1997; 47 (3): 899-903

Tuuminen T., Suomala P., Harju I, *Actinobaculum schaalii*: identification with MALDI-TOF, *New Microbe New Infect* 2014 (2):38–41

Bank S. Jensen A., Hansen T.M., Soby K.M., Prag J., *Actinobaculum schaalii*, a common uropathogen in elderly patients, Denmark, *Emerg. Infect. Dis.* 2010 Jan;16(1):76-80.

Cattoir V., *Actinobaculum schaalii*: review of an emerging uropathogen. *J. Infect.* 2012 Mar;64(3):260-7

Bequelin C., Genne D., Varca A. Tritten ML, Siegrist H.H., Jaton K. Lienhard R., *Actinobaculum schaalii*: clinical observation of 20 cases. *Clin. Microbiol. Infect.* 2011 Jul; 17(7): 1027-31

Olsen A.B., Andersen P.K., Bank S. Soby K.M., Lund L. Prag J., *Actinobaculum schaalii*, a commensal of the urogenital area, *BJU Int.* 2013 Aug;112(3):394-7.

Vanden Bempt I, Van Trappen S, Cleenwerck I, De Vos P., Camps K., Celens A., Van De Vyvere M., *Actinobaculum schaalii* causing Fournier's gangrene *J. Clin Microbiol.* 2011 Jun;49(6):2369-71.

Bank S., Cattoir V., Lienhard R., Grisold A.J., Thomsen T. Reinhard M.B, Olsen A.B., Christensen J.J., Soby K.M., Prag J. Recommendations for optimal detection and identification of *Actinobaculum schaalii* in urine, *APMIS* 2014, 122: 1043–1044

Cattoir V., Varca A. Greub G. Prod'hom G. Legrand P. Lienhard R., In vitro susceptibility of *Actinobaculum schaalii* to 12 antimicrobial agents and molecular analysis of fluorquinolone resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010 Dec;65(12):2514-7

Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, eight ed., 2015, Elsevier Saunders

#### **2.4 Cultuur M/12196 *Listeria monocytogenes***

Wij verwijzen naar de rapporten van voorgaande enquêtes i.v.m. *Listeria monocytogenes*; de laatste 3 waren: 2011/2 (M/11028), 2007/3 (M/6151) en 2001/3 (M/3029).

We wensen hier te herhalen dat deze kiem onderhevig is aan de aangifteplicht en dat ze naar het referentiecentrum verstuurd moet worden.

### III. Resultaten van de identificaties

---

161 laboratoria hebben een antwoord ingestuurd. Naast 158 Belgische en Luxemburgse waren dit 2 buitenlandse en één firmalaboratorium. Deze laatste 3 werden niet in de verwerking der resultaten opgenomen.

De correcte of aanvaardbare resultaten zijn onderlijnd.

Ter gelegenheid van deze enquête bestond voor de 1<sup>e</sup> maal de mogelijkheid om via de Toolkit te antwoorden. 78.5% van de laboratoria hebben hiervan gebruik gemaakt. 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,...

Hoewel in de Toolkit de mogelijk voorzien is om "uitbested" te antwoorden, zouden wij willen vragen deze in hoofdzaak te gebruiken indien u "vastloopt" in de identificaties. Indien u in routine een bepaalde staaloorsprong niet verwerkt (bvb. hemoculturen) raden wij u toch aan om dergelijke stalen te enten en identificeren (en het eventuele antibiogram uit te voeren): in vele gevallen betreft het hier immers kiemen die ook in andere afnames kunnen voorkomen.

#### **3.1 Cultuur M/4395 *Staphylococcus aureus* (hemocultuur)**

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "45-jarige patiënt met koorts. Eén hemocultuurfles op 4 is positief. Wij vragen u om de identificatie te antwoorden tot op het niveau dat u in routine antwoordt."

<u><i>Staphylococcus aureus</i></u>	154	97.5%
Afwezigheid van pathogenen <sup>1</sup>	1	
Uitbested	3	

<sup>1</sup> Dit laboratorium verduidelijkte zijn antwoord met de opmerking: " *S. aureus* geïdentificeerd doch beschouwd als niet-pathogeen aangezien slechts 1 fles op 4 positief was. Afname te herhalen als de kliniek aanwezig blijft."

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

---

<b>Antwoord</b>	<b>N labo's</b>
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram	2
Epidemiologische redenen + andere niet gepreciseerde redenen	1
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram <sup>1</sup>	5
Reden van doorstuur niet gepreciseerd	1
Wordt niet doorgestuurd	149
<b>Totaal</b>	<b>158</b>

---

<sup>1</sup> Twee laboratoria geven aan dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft (één van beide vermeldt expliciet confirmatie van de methicilline-resistentie via moleculaire biologie)

### **3.2 Cultuur M/11521 *Streptococcus agalactiae* (hemocultuur)**

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: “22-jarige zwangere patiënte met koorts. Zes hemocultuurflessen positief. Wij vragen u om de identificatie te antwoorden tot op het niveau dat u in routine antwoordt.”

<u><i>Streptococcus agalactiae</i></u>	153	96.8%
<u><math>\beta</math>-hemolytische streptokok van groep B</u>	1	0.6%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	
Uitbesteed	3	

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

<b>Antwoord</b>	<b>N labo's</b>
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram <sup>1</sup>	8
Epidemiologische redenen + serotypering	1
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram + andere niet gepreciseerde redenen	1
Epidemiologische redenen	36
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram <sup>2</sup>	9
Reden van doorstuur niet gepreciseerd	1
Wordt niet doorgestuurd	101
Geen antwoord op de vraag	1
<b>Totaal</b>	<b>158</b>

<sup>1</sup> Twee laboratoria geven aan dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft

<sup>2</sup> Twee laboratoria geven aan dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft

### **3.3 Cultuur M/12190 *Actinobaculum schaalii* (urine)**

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: “Man van 79 jaar opgenomen in het ziekenhuis gekend met nierstenen en 150 witte bloedcellen/ $\mu$ L en 45 rode bloedcellen/ $\mu$ L in de urine. Urinekweek wordt aangevraagd. Wij vragen u om de identificatie te antwoorden tot op het niveau dat u in routine antwoordt. Dit is een didactische stam.”

<i>Actinobaculum schaalii</i>	76
<i>Actinobaculum</i> species	5
<i>Actinomyces meyeri</i>	9
<i>Actinomyces turicensis</i>	2
<i>Actinomyces bernardiae</i>	1
<i>Actinomyces</i> species	3
<i>Aerococcus urinae</i>	1
<i>Aerococcus viridans</i>	1
<i>Aerococcus</i> species	2
<i>Alloscardovia omnivolens</i>	1
<i>Arcanobacterium bernardiae</i>	1
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	1
<i>Arcanobacterium</i> species	3
<i>Corynebacterium cystitidis</i>	1
<i>Corynebacterium</i> species	1
<i>Facklamia</i> species	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	5
<i>Globicatella sanguinis</i>	1
<i>Kocuria kristinae</i>	2
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	1
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	2
Gram positieve bacillen	21
Coryneforme Gram positieve bacillen	5
Coryneforme Gram variabele bacillen	1
Gram positieve coccobacillen	6
Gram positieve kokken	2
“Andere” kiemen (niet gepreciseerd)	1
Geen groei	1
Geen antwoord	1

Een aantal laboratoria vermeldde bij *Actinobaculum schaalii* expliciet het pathogene vermogen van deze kiem bij urineweginfecties.

Een aantal laboratoria vermeldde bij de Gram positieve bacillen de resultaten van de verschillende uitgevoerde biochemische testen die ze uitvoerden.

Ook een aantal van de andere antwoorden werden door de laboratoria van opmerkingen voorzien.

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

<b>Antwoord</b>	<b>N labo's</b>
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram <sup>1</sup>	2
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram <sup>2</sup>	71
Wordt niet doorgestuurd	84
Geen antwoord op de vraag	1
<b>Totaal</b>	<b>158</b>

<sup>1</sup> Eén laboratorium geeft aan dat het enkel de confirmatie van de identificatie betreft

<sup>2</sup> Vier laboratoria geven aan dat het enkel de confirmatie van de identificatie betreft

### **3.4 Cultuur M/12196 *Listeria monocytogenes* (huidpustels)**

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: “Een veearts doet een verlossing van een dood kalf bij een vaars. Eén dag later vertoont hij op de onderarmen kleine jeukende vlekken, welke hij ontsmet met hexomedine transcutane. De volgende dag vertoont hij lichte aanhoudende koorts (37.2 – 37.9 °C), griepgevoel, zeurende hoofdpijn en pijnlijke en jeukende armen. Nog een dag later worden de vlekken pustels die pijn doen en open breken. Op dat ogenblik wendt hij zich tot zijn huisarts die een staal afneemt voor microbiologisch onderzoek en wordt een behandeling met amoxicilline-clavulaanzuur gestart.

Wij vragen u om de identificatie te antwoorden tot op het niveau dat u in routine antwoordt.”

Wij bedanken Apr. Biol. M. Stalpaert van laboratorium AML voor het bezorgen van dit staal en de klinische informatie.

<u><i>Listeria monocytogenes</i></u>	148	93.7%
<i>Listeria species</i>	5	
<i>Listeria innocua</i>	2	
<i>Pasteurella species</i>	1	
Uitbesteed	2	

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

<b>Antwoord</b>	<b>N labo's</b>
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram <sup>1</sup>	17
Epidemiologische redenen + serotypering	2
Epidemiologische redenen + gezondheidsenquête	1
Epidemiologische redenen	65
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram	11
Reden van doorstuur niet gepreciseerd	1
Wordt niet doorgestuurd	61
<b>Totaal</b>	<b>158</b>

<sup>1</sup> Eén laboratorium geeft aan dat het enkel de confirmatie van de identificatie betreft

## IV. Antibioqram

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 antibiogram werd opgesteld op basis van de resultaten van de verschillende experts en de respectievelijke referentiecentra.

Aantal deelnemers = 155 voor M/4395 en 153 voor M/11521.

De drie labo's die beide stalen uitbesteden, hebben uiteraard geen antibiogram bepaald. Voor M/11521 antwoorden 2 laboratoria dat er in routine geen antibiogram uitgevoerd wordt; één van beide merkt op dat dit wel gebeurt in geval van penicilline-allergie, het andere dat *S. agalactiae* voorzien wordt van het standaard antwoord "Penicilline gevoelig".

Het laboratorium dat voor staal M/4395 antwoordde dat de *S. aureus* als niet-pathogeen beschouwd werd, heeft wel een antibiogram uitgevoerd en gerapporteerd.

### **4.1 Cultuur M/4395** (*Staphylococcus aureus*)

Niet alle deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor alle antibiotica.

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

**Tabel 4.1.1.** Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/4395 (*Staphylococcus aureus*):

<b>Antibioticum</b>	<b>Verwachte resultaat</b>	<b>Totaal</b>	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>*</b>
Penicilline		138	120	-	18	-
Oxacilline	S	133	132	-	-	1 <sup>1</sup>
Cefoxitine	S	121	120	-	-	1 <sup>2</sup>
Gentamicine	S	144	144	-	-	-
Amikacine <sup>3</sup>	S	2	2	-	-	-
Vancomycine	S	145	143	-	1	1 <sup>4</sup>
Chinolone						
Ciprofloxacin	S	66	63	-	-	3 <sup>5</sup>
Levofloxacin	S	66	66	-	-	-
Moxifloxacin	S	38	38	-	-	-
Ofloxacin	S	4	4	-	-	-
Chinolone <sup>6</sup>	S	1	1	-	-	-

<sup>1</sup> Eén laboratorium vermeldde wel de bekomen diameter (19 mm, Neosensitabs nieuwe lading) maar vermeldde "geen EUCAST-zone: wordt in routine niet gebruikt" (voor cefoxitine antwoordde dit labo "S")

<sup>2</sup> Eén laboratorium vermeldde wel de bekomen diameter (29 mm, papieren schijfjes afgelezen met Sirscan) en ruw en expert resultaat (beide "S") maar liet het finale resultaat open (voor oxacilline antwoordde dit labo "S")

<sup>3</sup> Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor amikacine i.p.v. gentamicine.

<sup>4</sup> Eén laboratorium vermeldde wel de bekomen diameter (15 mm, papieren schijfjes) maar gaf de opmerking: "gezien diameter > 7 mm, moet de MIC-bepaald worden, wat niet gebeurt in ons labo".



- <sup>5</sup> Drie laboratoria lieten het finale resultaat open: één gaf de diameter weer (29 mm, papieren schijfjes afgelezen met Sirscan) en ruw en expert resultaat (beide "S"); een tweede de diameter (23, papieren schijfjes) en het ruw resultaat ("S") en het derde enkel de diameter (28 mm, papieren schijfjes)
- <sup>6</sup> Eén laboratorium vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

**Wij blijven er op aandringen dat u de naam van de gebruikte chinolone zou vermelden: dit komt de verwerking van de resultaten ten goede.**

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.

De resultaten van de laboratoria die de diameter van de papieren schijfjes manueel afgelezen hebben, vindt u in tabel 4.1.2. 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 Osiris, Adagio of Sirscan gebruikt hebben om de diameters van de papieren schijfjes af te lezen vindt u in tabellen 4.1.3., 4.1.4 en 4.1.5. De berekeningen van mediaan, minimum en maximum zijn echter niet uitgevoerd voor Osiris en Adagio omwille van het beperkte aantal deelnemers voor deze methoden.

**Tabel 4.1.2.** Bekomen diameters met de papieren schijfjes voor staal M/4395 (*Staphylococcus aureus*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Penicilline <sup>1</sup>	(16) 6 10	1 U 6 <sup>2</sup>	29 33.5	20 – 31 30 – 46	14 4 10	- - -	2 2 -	- - -
Oxacilline	5 (5)	1	24	20 – 27	5	-	-	-
Cefoxitine	26 (26)	30	28.5	22 – 35	26	-	-	-
Gentamicine	15 (16)	10	24	20 – 28	16	-	-	-
Vancomycine	(7) <sup>3</sup>				6	-	-	1 <sup>4</sup>
Chinolone								
Ciprofloxacin	9 (9)	5	26	23 – 30	7	-	-	2 <sup>5</sup>
Levofloxacin	5 (5)	5	28	23 – 31	5	-	-	-
Moxifloxacin	3 (4)	5	32	29 – 32	4	-	-	-
Ofloxacin	1 (1)	5	28	-	1	-	-	-

<sup>1</sup> Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt.

<sup>2</sup> 6 µg = 10 U

<sup>3</sup> Er werden 3 verschillende ladingen (5, 30 en 70 µg) gebruikt..

<sup>4</sup> Eén laboratorium vermeldde wel de bekomen diameter (15 mm) maar gaf de opmerking: "gezien diameter ≥ 7 mm, moet de MIC bepaald worden, wat niet gebeurt in ons labo".

<sup>5</sup> Twee laboratoria lieten het finale resultaat open: één gaf de diameter (23) en het ruw resultaat ("S") weer en het tweede enkel de diameter (28 mm).

**Tabel 4.1.3.** Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/4395 (*Staphylococcus aureus*)

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>		
		<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>
Penicilline	1	1	-	-
Oxacilline	1	1	-	-
Cefoxitine	3	3	-	-
Gentamicine	1	1	-	-
Amikacine	1	1	-	-
Chinoloe				
Ciprofloxacin	1	1	-	-
Moxifloxacin	1	1	-	-
Ofloxacin	1	1	-	-

**Tabel 4.1.4.** Resultaten bekomen met de Adagio voor M/4395 (*Staphylococcus aureus*)

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>		
		<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>
Penicilline	1	1	-	-
Oxacilline	2	2	-	-
Cefoxitine	3	3	-	-
Gentamicine	1	1	-	-
Amikacine	1	1	-	-
Vancomycine	2	2	-	-
Chinolone				
Ciprofloxacin	1	1	-	-
Levofloxacin	2	2	-	-

**Tabel 4.1.5.** Resultaten bekomen met de Sirscan met de papieren schijfjes staal M/4395 (*Staphylococcus aureus*)

<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>
Penicilline <sup>1</sup>	(6)				5	-	1	-
	4	1 U	32	28 – 34	3	-	1	-
	10	6 <sup>2</sup>	35	32 – 38	2	-	-	-
Oxacilline	2 (2)	1	24	24 – 24	2	-	-	-
Cefoxitine	7 (7)	30	29	23 – 36	6	-	-	1 <sup>3</sup>
Gentamicine	7 (7)	10	26	22 – 34	7	-	-	-
Vancomycine	(3) <sup>4</sup>				3	-	-	-
Chinolone								
Ciprofloxacin	3 (3)	5	28	26 – 29	2	-	-	1 <sup>5</sup>
Levofloxacin	1 (1)	5	30	-	1	-	-	-
Moxifloxacin	2 (2)	5	34.5	30 – 39	2	-	-	-
Ofloxacin	1 (1)	5	27	-	1	-	-	-

<sup>1</sup> Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt.

<sup>2</sup> 6 µg = 10 U

<sup>3</sup> Eén laboratorium vermeldde wel de bekomen diameter (29 mm) en ruw en expert resultaat (beide "S") maar liet het finale resultaat open (voor oxacilline antwoordde dit labo "S").

<sup>4</sup> Er werden 2 verschillende ladingen (5 en 30 µg) gebruikt.

<sup>5</sup> Eén laboratorium liet het finale resultaat open: het gaf wel de diameter weer (29 mm) en ruw en expert resultaat (beide "S") weer.

In tabellen 4.1.6. en 4.1.7. vermeldden wij voor de Neosensitabs schijfjes de resultaten bekomen met de nieuwe ladingen ("new"), respectievelijk manueel en met de Sirscan afgelezen. Enkel van de manueel afgelezen Neosensitabs schijfjes waren er echter voldoende deelnemers om op statistisch zinvolle manier mediaan, minimum en maximum te bepalen.

Slechts 3 laboratoria gebruikten de Neosensitabs met de klassieke ladingen ("old") (alle drie manueel afgelezen): één laboratorium voor penicilline en twee voor cefoxitine; alle drie bekwamen het resultaat "S".

**Tabel 4.1.6.** Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/4395 (*Staphylococcus aureus*)

<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>
Penicilline <sup>1</sup>	(9)				8	-	1	-
	4	1 U	29	26 – 35	3	-	1	-
	4	6 <sup>2</sup>	33.5	26 – 45	4	-	-	-
Oxacilline	5 (7)	1	26	17 – 28	6	-	-	1 <sup>3</sup>
Cefoxitine	11 (12)	30	30	22 – 40	12	-	-	-
Gentamicine	7 (8)	10	23	7 – 25	8	-	-	-
Vancomycine	(7) <sup>4</sup>				6	-	-	1 <sup>5</sup>
Chinolone								
Ciprofloxacin	5 (6)	5	27	24 – 32	6	-	-	-
Levofloxacin	3 (3)	5	28	28 – 34	3	-	-	-
Moxifloxacin	1 (1)	5	24	-	1	-	-	-

<sup>1</sup> Er werden 3 verschillende ladingen gebruikt (naast de 2 ladingen vermeld in de tabel, vermeldde één labo de lading "5").

<sup>2</sup> 6 µg = 10 u

<sup>3</sup> Eén laboratorium vermeldde wel de bekomen diameter (19 mm) maar vermeldde "geen EUCAST-zone: wordt in routine niet gebruikt" (voor cefoxitine antwoordde dit labo "S").

<sup>4</sup> Er werden 3 verschillende ladingen (5, 30 en 70 µg) gebruikt.

<sup>5</sup> Eén laboratorium vermeldde wel de bekomen diameter (18 mm) en ruw en expert resultaat (beide "S") maar gaf de opmerking: "Geen interpretatie van vancomycine via diffusie mogelijk indien gevoelig (enkel bij groei tot tegen schijfje kan men besluiten tot R) Daarom steeds MIC bepalen". Dit laboratorium heeft de MIC bepaald met als resultaat "S".

**Tabel 4.1.7.** Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/4395 (*Staphylococcus aureus*)

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>		
		<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Penicilline	2	2	-	-
Cefoxitine	4	4	-	-
Gentamicine	3	3	-	-
Vancomycine	1	1	-	-
Chinolone				
Ciprofloxacin	3	3	-	-
Levofloxacin	1	1	-	-

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

**Tabel 4.1.8.** Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor staal M/4395 (*Staphylococcus aureus*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal laboratoria</i>	<i>Resultaat</i>	<i>MIC-waarde (mg/L)</i>
Penicilline	4	4 x s	1 X 0.023 mg/L; 3 x 0.032 mg/L
Oxacilline	1	1 X s	0.19 mg/L;
Gentamicine	2	2 x S	0.016 mg/L; 0.25 mg/L
Vancomycine	14	14 x S	10 x 1.5 mg/l; 4 x 2 mg/L
Ciprofloxacine	1	1 x S	0.5 mg/L

Twee laboratoria gebruikten de MICE-test voor de bepaling van de gevoeligheid voor vancomycine; beide bekwamen het resultaat "S" (met respectievelijke MIC-waarden 1.5 en 2 mg/L).

Eén laboratorium gebruikte de MIC test Strip voor de bepaling van de gevoeligheid voor vancomycine met als resultaat "S" (MIC-waarde 1 mg/L)..

De resultaten bekomen met de Vitek worden weergegeven in tabel 4.1.9.

**Tabel 4.2.9.** Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/4395 (*Staphylococcus aureus*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Vitek 2</i>				<i>Vitek 2 compact</i>					
	<i>Finaal resultaat</i>			<i>Meest vermelde MIC waarde (mg/L)</i>		<i>Finaal resultaat</i>			<i>Meest vermelde MIC waarde (mg/L)</i>	
	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>			<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>		
Penicilline	50	-	9	0.06	29 (59)	29	-	4	0.06	20 (33)
Oxacilline	62	-	-	≤0.25	42 (62)	33	-	-	≤0.25	16 (33)
Cefoxitine	35	-	-	‡	(35)	16	-	-	‡	(16)
Gentamicine	60	-	-	≤0.5	60 (60)	34	-	-	≤0.5	34 (34)
Vancomycine	59	-	-	1	36 (59)	33	-	1	1	22 (34)
Chinolone										
Ciprofloxacine	19	-	-	≤0.5	19 (19)	13	-	-	≤0.5	13 (13)
Levofloxacine	36	-	-	≤0.12	34 (36)	17	-	-	≤0.12	13 (17)
Moxifloxacine	21	-	-	≤0.25	21 (21)	3	-	-	≤0.25	3 (3)
Chinolone	-	-	-	-	-	1	-	-	≤0.12	1 (1)

‡ De Vitek geeft geen kwantitatief resultaat voor cefoxitine maar het antwoord van de cefoxitinescreening wordt als negatief of positief vermeld (voor de "eenvoudigheid" hebben wij "negatief" als "S" en "positief" als "R" vermeld).

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

- voor penicilline vonden 27 laboratoria een MIC  $\leq 0.03$  mg/L en 3 laboratoria een MIC van 0.12 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vonden 10 laboratoria een MIC  $\leq 0.03$  mg/L en 3 laboratoria een MIC van 0.12 mg/L
- voor oxacilline vonden 16 laboratoria een MIC van 0.5 mg/L en 4 laboratoria een MIC van 1 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vond 1 laboratorium een MIC van 0.05 mg/L, 12 laboratoria een MIC van 0.5 mg/L en 4 laboratoria een MIC van 1 mg/L
- voor vancomycine vonden 19 laboratoria een MIC  $\leq 0.5$  mg/L en 4 laboratoria een MIC van 2 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vonden 11 laboratoria een MIC  $\leq 0.5$  mg/L en 1 laboratorium een MIC  $\geq 32$  mg/L (dit is het labo dat "R" antwoordde)
- voor levofloxacin vonden 2 laboratoria een MIC  $\leq 0.25$  mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vond 1 laboratorium een MIC  $\leq 0.1$  mg/L, 2 laboratoria een MIC van 0.25 mg/L en 1 laboratorium een MIC  $\leq 0.5$  mg/L

Twee laboratoria gebruikten de ATB methode voor bepaling van de gevoeligheid voor penicilline, oxacilline, cefoxitine, gentamicine, vancomycine en levofloxacin; één van beide bepaalde eveneens de gevoeligheid voor ofloxacin. Alle resultaten waren "S".

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.1.10.

**Tabel 4.1.10.** Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/4395 (*Staphylococcus aureus*)

Antibioticum	Resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/l)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Penicilline	11	-	2	$\leq 0.625$	6 (13)
Oxacilline	17	-	-	$\leq 0.25$	15 (17)
Cefoxitine	17	-	-	$\leq 2$	17 (17)
Gentamicine	17	-	-	$\leq 1$	17 (17)
Vancomycine	17	-	-	1	8 (17)
Chinolone					
Ciprofloxacin	10	-	-	0.25	9 (10)
Moxifloxacin	9	-	-	$\leq 0.125$	9 (9)

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

- voor penicilline vond 1 laboratorium een MIC van 0.032 mg/L, 1 laboratorium een MIC  $< 0.06$  mg/L, 3 laboratoria een MIC van 0.125 mg/L en 2 laboratoria een MIC  $> 0.25$  (dit zijn de beide labo's die "R" geantwoord hebben)
- voor oxacilline vonden 3 deelnemers een MIC van 1 mg/L
- voor vancomycine vond 1 laboratorium een MIC  $\leq 0.125$  mg/L, 1 laboratorium een MIC  $< 1$  mg/L en 7 laboratoria een MIC van 2 mg/L
- voor ciprofloxacin vond 1 laboratorium een MIC van 0.5 mg/L

De resultaten bekomen met de Microscan worden weergegeven in tabel 4.1.11.

**Tabel 4.1.11.** Resultaten bekomen met de Microscan voor M/4395 (*Staphylococcus aureus*)

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>		
		<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Penicilline	3	3	-	-
Oxacilline	3	3	-	-
Cefoxitine	3	3	-	-
Gentamicine	2	2	-	-
Vancomycine	3	3	-	-
Chinolone				
Levofloxacin	2	2	-	-
Moxifloxacin	1	1	-	-

We dienen nog te vermelden dat:

- 3 laboratoria oxacilline als gevoelig beschouwen, afgeleid op basis van het resultaat van cefoxitine
- 1 laboratorium (Vitek 2 gebruiker) verklaart dat het resultaat "S" voor ciprofloxacin "afgeleid" is

De meeste laboratoria behielden het ruw resultaat voor het antwoorden van het finale resultaat. Toch wijzigden enkele laboratoria het ruw resultaat "S" naar "R" voor penicilline:

- Neosensitabs (nieuwe ladingen): 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
- Vitek 2: 8 labo's
- Vitek 2 compact: 2 labo's

#### **4.2 Cultuur M/11521 (*Streptococcus agalactiae*)**

Niet alle deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor alle antibiotica.

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

Een aantal laboratoria voorzagen hun resultaat van een opmerking:

- Eén laboratorium vermeldde dat er in routine geen antibiogram uitgevoerd zou worden: "β-hemolytische streptokokken krijgen de vermelding mee dat ze steeds penicilline gevoelig zijn. Enkel indien de aanvraag vermeldt dat het om een peni-allergische patiënt gaat, wordt een antibiogram ingezet."
- Eén laboratorium vermeldde dat ampicilline in routine niet getest wordt
- Voor de macroliden vermeldden twee laboratoria dat erythromycine in routine niet gerapporteerd wordt, twee labo's dat dit antibioticum in routine niet getest wordt, één dat het door de Vitek geschrapt werd en twee labo's dat clarithromycine getest werd i.p.v. erythromycine. Eén labo vermeldde "Erythromycine vermoedelijk wel geschikt voor therapie. Vitek 2 kent dit fenotype niet en maakt een correctie op basis van een constitutieve MLS<sub>B</sub> resistentie met de vermelding dat de MIC-waarde van erythromycine 2 diluties te laag ligt voor dit fenotype."
- Twee laboratoria vermeldden het vermoeden van een (constitutieve) MLS<sub>B</sub>-resistentie; een ander labo vermeldde dat er geen MLS<sub>B</sub>-resistentie aanwezig is; twee labo's suggereerden de aanwezigheid van een LSA-gen; twee labo's vermeldden dat ze de D-zone test uitvoerden (één van beide vermeldt dat dit zonder belang is aangezien erythromycine gevoelig is, het andere dat deze test positief was); één labo benadrukte de discordantie tussen de resultaten van erythromycine en clindamycine.

**Tabel 4.2.1.** Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/11521 (*Streptococcus agalactiae*)

<b>Antibioticum</b>	<b>Verwachte resultaat</b>	<b>Totaal</b>	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>*</b>
Ampicilline	S	125	124	-	1	-
Penicilline <sup>1</sup>	S	23	23	-	-	-
Erythromycine	S	147	91	5	51	-
Clarithromycine <sup>2</sup>	S	2	2	-	-	-
Clindamycine	R	152	1	-	151	-
Vancomycine	S	133	131	-	2	-
Chinolone						
Ciprofloxacin	S	11	7	1	3	-
Levofloxacin	S	79	77	-	2	-
Moxifloxacin	S	36	35	1	1	1 <sup>3</sup>
Norfloxacin	S	3	2	-	1	-
Ofloxacin	S	4	3	1	-	-
Chinolone <sup>4</sup>	S	1	1	-	-	-



- <sup>1</sup> Drieëntwintig laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor penicilline i.p.v. ampicilline.
- <sup>2</sup> Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor clarithromycine i.p.v. erythromycine.
- <sup>3</sup> Eén laboratorium vermeldde wel de bekomen diameter (25 mm, papieren schijfjes afgelezen met Sirscan) en ruw en expert resultaat (beide "S") maar liet het finale resultaat open.
- <sup>4</sup> Eén laboratorium vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

**Wij blijven er op aandringen dat u de naam van de gebruikte chinolone zou vermelden: dit komt de verwerking van de resultaten ten goede.**

De resultaten van de laboratoria die de diameter van de papieren schijfjes manueel afgelezen hebben, vindt u in tabel 4.2.2.

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 Osiris of Adagio of Sirscan gebruikt hebben om de diameters van de papieren schijfjes af te lezen vindt u in tabellen 4.2.3., 4.2.4 en 4.2.5. De berekeningen van mediaan, minimum en maximum zijn echter niet uitgevoerd voor Osiris en Adagio omwille van het beperkte aantal deelnemers voor deze methoden.

**Tabel 4.2.2.** Bekomen diameters met de papieren schijfjes voor staal M/11521 (*Streptococcus agalactiae*)

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 <sup>1</sup>	(17)				17	-	-
	4	2	24	21 – 28	4	-	-
	11	10	29	25 – 32	10	-	-
Penicilline	6 (7)	1	22	20 – 26	7	-	-
Erythromycine	43 (43)	15	25	19 – 32	37	1	5
Clarithromycine	2 (2)	15	25	24 – 26	2	-	-
Clindamycine <sup>2</sup>	36 (39)	2	6.5	6 – 17	1	-	38
Vancomycine <sup>3</sup>	(20)				20	-	-
	9	5	16	14 – 20	9	-	-
	10	30	20	13 – 23	10	-	-
Chinolone							
Ciprofloxacin	3 (3)	5	22	21 – 22	3	-	-
Levofloxacin	9 (9)	5	21	17 – 26	9	-	-
Moxifloxacin	7 (7)	5	25	18 – 30	7	-	-
Norfloxacin	2 (2)	10	15.5	13 – 18	2	-	-
Ofloxacin	2 (2)	5	17.5	15 – 20	1	1	-

- <sup>1</sup> Er werden 3 verschillende ladingen gebruikt (naast de 2 ladingen vermeld in de tabel, vermeldde één labo de lading "25")
- <sup>2</sup> Tevens vermeldden twee laboratoria een diameter "0".
- <sup>3</sup> Er werden 3 verschillende ladingen gebruikt (naast de 2 ladingen vermeld in de tabel, vermeldde één labo de lading "70").

**Tabel 4.2.3.** Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/11521 (*Streptococcus agalactiae*)

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>		
		<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>
Ampicilline	2	2	-	-
Erythromycine	3	3	-	-
Clindamycine	3	-	-	3
Vancomycine	1	1	-	-
Chinolone				
Moxifloxacin	1	1	-	-
Ofloxacin	1	1	-	-

**Tabel 4.2.4.** Resultaten bekomen met de Adagio voor M/11521 (*Streptococcus agalactiae*)

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>		
		<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>
Ampicilline	1	1	-	-
Penicilline	2	2	-	-
Erythromycine	4	4	-	-
Clindamycine	4	-	-	4
Vancomycine	4	4	-	-
Chinolone				
Levofloxacin	2	2	-	-

**Tabel 4.2.5.** Resultaten bekomen met de Sirscan met de papieren schijfjes staal M/11521 (*Streptococcus agalactiae*)

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 <sup>1</sup>	(4)				3	-	1	-
	2	2	24.5	23 – 26	1	-	1	-
	2	10	34.5	32 – 37	2	-	-	-
Penicilline	2 (2)	1	22.5	22 – 23	2	-	-	-
Erythromycine	8 (8)	15	23.5	19 – 28	4	-	4	-
Clindamycine	8 (8)	2	6	6 – 9	-	-	8	-
Vancomycine <sup>2</sup>	(6)				6	-	-	-
	4	5	18.5	17 – 19	4	-	-	-
	2	30	21.5	20 – 23	2	-	-	-
Chinolone								
Levofloxacin	3 (3)	5	21	21 – 22	3	-	-	-
Moxifloxacin	2 (2)	5	24	23 – 25	1	-	-	1 <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt.

<sup>2</sup> Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt.

<sup>3</sup> Eén laboratorium vermeldde wel de bekomen diameter (25 mm) en ruw en expert resultaat (beide "S") maar liet het finale resultaat open.

In tabellen 4.2.6. en 4.2.7. vermeldden wij voor de Neosensitabs schijfjes de resultaten bekomen met de nieuwe ladingen ("new"), respectievelijk manueel en met de Sirscan afgelezen. Enkel van de manueel afgelezen Neosensitabs schijfjes waren er echter voldoende deelnemers om op statistisch zinvolle manier mediaan, minimum en maximum te bepalen.

Slechts 3 laboratoria gebruikten de Neosensitabs met de klassieke ladingen ("old") (alle drie manueel afgelezen): één laboratorium voor erythromycine (resultaat "S") en twee voor levofloxacin (beide met resultaat "R").

**Tabel 4.2.6.** Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/11521 (*Streptococcus agalactiae*)

<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 <sup>1</sup>	(10) 4	2	27.5	24 – 30	10 4	- -	- -
Penicilline	6	10	33.5	24 – 44	6	-	-
Erythromycine <sup>2</sup>	5 (6)	1	23	21 – 26	6	-	-
Clindamycine <sup>2</sup>	18 (18)	15	27	21 – 34	17	-	1
Vancomycine <sup>3</sup>	20 (21)	2	9.5	8 – 11	-	-	21
	(8)				7	-	1
	5	5	15	13 – 18	4	-	1
Chinolone	2	30	19.5	19 – 20	2	-	-
Ciprofloxacin	3 (3)	5	17	14 – 18	2	-	1
Levofloxacin	3 (3)	5	20	20 – 21	3	-	-
Moxifloxacin	5 (5)	5	21	20 – 28	4	1	-
Norfloxacin	1 (1)	5	10	-	-	-	1

<sup>1</sup> Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt..

<sup>2</sup> Tevens vermeldde één laboratorium een diameter "0".

<sup>3</sup> Er werden 3 verschillende ladingen gebruikt (naast de 2 ladingen vermeld in de tabel, vermeldde één labo de lading "70").

**Tabel 4.2.7.** Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/11521 (*Streptococcus agalactiae*)

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>		
		<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	1	1	-	-
Erythromycine	7	6	-	1
Clindamycine	3	-	-	3
Vancomycine	4	3	-	1
Chinolone				
Ciprofloxacin	2	1	1	-
Levofloxacin	2	2	-	-

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

**Tabel 4.2.8.** Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor staal M/11521 (*Streptococcus agalactiae*).

<b>Antibioticum</b>	<b>Aantal laboratoria</b>	<b>Resultaat</b>	<b>MIC-waarde (mg/L)</b>
Ampicilline	2	2 x S	0.094 mg/L; 0.12mg/L
Penicilline	4	4 x S	0.032 mg/L; 0.047 mg/L; 0.064 mg/L; 0.16mg/L
Erythromycine	3	3 x S	0.047 mg/L; 0.125 mg/L; 0.19 mg/L
Clindamycine	4	4 x R	2 x 6 mg/L; 8 mg/L; 16 mg/L
Vancomycine	6	6 x S	3 x 0.38 mg/L; 2 x 0.5 mg/L; 1 x CMI non mentionnée
Chinolone			
Levofloxacin	1	1 x S	1 mg/L
Moxifloxacin	2	2 x S	2 x 0.125 mg/L

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

**Tabel 4.2.9.** Resultaten bekomen MIC-waarden met de MICE-test voor staal M/11521 (*Streptococcus agalactiae*).

<b>Antibioticum</b>	<b>Aantal laboratoria</b>	<b>Resultaat</b>	<b>MIC-waarde (mg/L)</b>
Ampicilline	2	2 x S	2 x 0.06 mg/L
Penicilline	1	1 x S	0.12 mg/L
Vancomycine	1	1 x S	0.25 mg/L

Twee laboratoria gebruikten de MIC test Strip voor de bepaling van de gevoeligheid voor penicilline: beide bekwamen een MIC-waarde van 0.047 mg/L met als interpretatie "S".

De resultaten bekomen met de Vitek worden weergegeven in tabel 4.2.10.

**Tabel 4.2.10.** Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/11521 (*Streptococcus agalactiae*).

<b>Antibioticum</b>	<b>Vitek 2</b>						<b>Vitek 2 compact</b>					
	<b>Finaal resultaat</b>			<b>Meest vermelde MIC waarde (mg/L)</b>	<b>Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)</b>	<b>Finaal resultaat</b>			<b>Meest vermelde MIC waarde (mg/L)</b>	<b>Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)</b>		
	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>			<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>				
Ampicilline	50	-	-	≤0.25	48 (50)	25	-	-	≤0.25	22 (25)		
Penicilline	3	-	-	≤0.12	2 (3)	-	-	-	-	-		
Erythromycine	13	2	26	≤0.25	21 (41)	4	2	15	≤0.25	12 (21)		
Clindamycine	-	-	48	≥8	30 (48)	-	-	27	≥8	18 (27)		
Vancomycine	51	-	-	≤0.5	51 (51)	28	-	-	≤0.5	28 (28)		
Chinolone												
Ciprofloxacin	-	-	1	≤0.5	1 (1)	-	-	-	-	-		
Levofloxacin	37	-	-	≤1	32 (37)	21	-	-	≤1	16 (21)		
Moxifloxacin	10	-	1	≤0.25	11 (11)	6	-	-	≤0.25	6 (6)		
Chinolone	-	-	-	-	-	1	-	-	1	1 (1)		

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 ampicilline vond 1 laboratorium een MIC  $\leq 0.06$  mg/L en 1 laboratorium een MIC  $\leq 0.12$  mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vond 1 laboratorium een MIC  $\leq 0.12$  mg/L en 1 laboratorium een MIC  $\leq 0.2$  mg/L
- voor penicilline vond 1 laboratorium een MIC  $\leq 0.06$  mg/L en 1 laboratorium een MIC  $\leq 0.12$  mg/L met Vitek 2
- voor erythromycine vonden 20 laboratoria een MIC  $\leq 0.12$  mg/L met Vitek 2; voor Vitek 2 compact vonden 9 laboratoria dezelfde waarde
- voor clindamycine vonden 18 laboratoria een MIC  $\geq 1$  mg/L met Vitek 2 en 9 laboratoria dezelfde waarde met Vitek 2 compact
- voor levofloxacin vonden 5 deelnemers een MIC  $\leq 0.5$  mg/L met Vitek 2 en 5 deelnemers dezelfde waarde met Vitek 2 compact

Gezien de afwijkende resultaten die de Vitek bekwaam voor erythromycine, heeft de firma bioMérieux de stam onderzocht en ons volgend resultaat van hun onderzoek bezorgd:

“Wij herhaalden de resultaten van de klanten met ERY MIC resultaten  $\leq 0.125$  mg/L op de AST-ST01 kaart en wij bevestigen dat deze MIC conform is (binnen 1 dubbele verdunning van de referentie MIC)

→ MIC erythromycine was bevestigd als “gevoelig”.

Het AES expertsysteem wordt gebruikt om de VITEK 2 MIC-waarden per antibioticum te interpreteren en de detectie van natuurlijke of verworven resistentiemechanismen mogelijk te maken.

Op Vitek 2 wordt elk fenotype met ERY S (MIC  $\leq 0.125$ ) en CLINDA R (MIC  $\geq 1$ ) beschreven.

→ Met de resultaten : MIC clindamycine Resistent (MIC  $\geq 1$  mg/L) en Inducible Clindamycine resistentietest negatief, maakt AES een therapeutische én een biologische correctie op erythromycine naar het meest waarschijnlijke fenotype (MLSB constitutive) in overeenkomst met de 'politiek van het minste risico'.

In de literatuur is het profiel Ery S en Clin R zeldzaam en eerder ten gunste van fenotype LSa

Daarentegen zijn noch het mechanisme noch het gen gekend voor het species *Streptococcus agalactiae*.

De MIC verkregen op Vitek 2 bevestigt het verwachte resultaat ery S , maar Vitek 2 gaf twee resultaten : ERY S (MIC) en geëxpertiseerd ERY R.”

Twee laboratoria gebruikten de ATB methode voor bepaling van de gevoeligheid voor ampicilline, erythromycine, vancomycine en levofloxacin. Alle resultaten waren "S".

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.2.11.

**Tabel 4.2.11.** Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/11521 (*Streptococcus agalactiae*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Resultaat</i>			<i>Meest vermelde MIC waarde (mg/L)</i>	<i>Aantal labo's dat deze MIC waarde vermelde (Totaal aantal gebruikers)</i>
	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>		
Ampicilline	5	-	-	≤0.25	4 (5)
Penicilline	1	-	-	≤0.0625	1 (1)
Erythromycine	10	-	-	≤0.0625	9 (10)
Clindamycine	-	-	12	≥0.5	10 (12)
Vancomycine	10	-	-	≤0.5	10 (10)
Chinolone					
Levofloxacin	2	-	-	≤0.5 en 1	1 en 1 (2)
Moxifloxacin	7	-	-	≤0.25	7 (7)

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

- voor ampicilline vond 1 laboratorium een MIC ≤2 mg/L
- voor erythromycine vond 1 laboratorium een MIC ≤0.125 mg/L
- voor clindamycine vonden 2 laboratoria een MIC ≥1 mg/L

Twee laboratoria gebruikten de Microscan: het ene voor ampicilline, erythromycine, vancomycine, ciprofloxacin (allen "S") en clindamycine ("R"); het andere voor ampicilline, erythromycine (beide "S") en clindamycine ("R").

We dienen nog te vermelden dat:

- 9 laboratoria vermeldden dat ze het resultaat "S" voor ampicilline afgeleid hebben op basis van het resultaat van penicilline en één laboratorium niet vermeldde welke methode het gebruikte om ampicilline als "S" te beschouwen
- één laboratorium niet vermeldde welke methode het gebruikte om ciprofloxacin als "R" te beschouwen
- 1 laboratorium (Vitek 2 gebruiker) verklaart dat het resultaat "S" voor ofloxacin "afgeleid" is

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:

- Erythromycine:
  - o S→I
    - Vitek 2: 2 labo's
    - Vitek 2 compact: 2 labo's
  - o S→R
    - Papieren schijfjes: 4 labo's
    - Papieren schijfjes, afgelezen met Sirscan: 3 labo's
    - Neosensitabs (nieuwe ladingen): 1 labo (mede op basis van de resultaten van andere technieken)
    - Neosensitabs (nieuwe ladingen), afgelezen met Sirscan: 1 labo
    - Vitek 2: 25 labo's (waarvan 3 mede op basis van de resultaten van andere technieken)
    - Vitek 2 compact: 14 labo's (waarvan 2 mede op basis van de resultaten van andere technieken)
  - o I→R
    - Papieren schijfjes: 1 labo
    - Papieren schijfjes, afgelezen met Sirscan: 1 labo
    - Vitek 2: 1 labo
- Clindamycine:
  - o S→R
    - Papieren schijfjes: 1 labo
- Ciprofloxacin:
  - o S→R
    - Vitek 2: 1 labo
- Moxifloxacin
  - o S→R
    - Vitek 2: 1 labo



### **5.1 De monsters**

Ter gelegenheid van deze enquête werden 2 bloeditstrijkjes verzonden.

169 laboratoria namen deel aan de enquête.

Het aantal toolkit gebruikers bedroeg 86.4%. 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,...

Indien u meerdere evolutiestadia van eenzelfde parasiet voor één staal wenst te rapporteren, kan u deze zelfde parasiet 2 (of 3) maal invullen per staal met telkens een ander evolutiestadium.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische informatie:

P/9033

Patiënt is sinds 3 dagen ziek, acuut begonnen met rikkoorts, voelde zich nadien weer stuk beter. De volgende dag echter piekende koorts, malaise, hoofdpijn, buikpijn en myalgie. Verbleef één maand in Ivoorkust (klein dorpje), terug in België sinds 1 week. Geen malariaprofylaxe genomen, geen muggenbeschermende maatregelen.

P/12526

Een Ivoriaanse man die al vele jaren in België woont, gaat op bezoek bij zijn familie in Ivoorkust en komt 11 dagen na terugkeer op consultatie wegens koorts die op dat moment al 6 dagen duurt.

Staal P/9033 bevatte trofozoïeten van *Plasmodium falciparum*.

Staal P/12526 bevatte trofozoïeten, schizonten en gametocyten van *Plasmodium ovale*.

Beide resultaten werden ook via PCR bevestigd.

Gezien een aantal laboratoria moeilijkheden ondervonden met de kleuring zal staal P/9033 niet in aanmerking genomen worden voor de beoordeling. Kleuring met Giemsa (buffer pH 7.2) liet bij voorafgaandelijke evaluatie op het WIV toe om de rode bloedcellen en de parasieten duidelijk te visualiseren.

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

## 5.2 Staal P/9033

Tien laboratoria lieten, gezien de moeilijkheden die zij ondervonden om de rode bloedcellen en parasieten te visualiseren, het antwoord op dit staal open.

De overige 159 laboratoria leverden 160 antwoorden in. Eén laboratorium antwoordde “afwezigheid van parasieten”, 157 laboratoria antwoordden één parasiet en 1 laboratorium antwoordde 2 parasieten.

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven :

**Tabel 5.2.1.** Resultaten voor staal P/9033

<b>Resultaat</b>	<b>Aantal</b>
<i>Plasmodium falciparum</i>	131
<i>Plasmodium species</i>	1
<i>Babesia species</i>	27
Afwezigheid van parasieten	1
<b>Totaal</b>	<b>160</b>

Het laboratorium dat de aanwezigheid van 2 parasieten vermeldde, antwoordde “*P. falciparum* + *Babesia species*”. Dit labo vermeldde dat het in routine voor zijn besluitvorming ook de resultaten van de sneltesten gebruikt.

Vier laboratoria die *Babesia* sp. antwoordden, vermeldden dat de differentieel diagnose moet gesteld worden met *P. falciparum*. Twee laboratoria verklaarden: “In routine: bij negatieve malaria sneltest: voorkeur *Babesia species*; bij positieve malaria sneltest: trofozoïeten *Plasmodium falciparum*.”

Vijf laboratoria die *P. falciparum* antwoordden, vermeldden dat de differentieel diagnose moet gesteld worden met *Babesia* sp. Twee laboratoria vermeldden dat in routine het resultaat van de Ag-test eveneens in rekening gebracht wordt, één laboratorium dat in routine de Ag-test uitgevoerd wordt en het staal doorgestuurd wordt voor PCR, en één laboratorium dat in routine de diagnose aangevuld wordt met moleculaire testen.

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Plasmodium falciparum* worden in tabel 5.2.2. weergegeven. 127 laboratoria hebben 1 evolutiestadium geantwoord en 4 hebben 2 evolutiestadia (trofozoïet + gametocyt) geantwoord.

**Tabel 5.2.2.** Evolutiestadia voor *Plasmodium falciparum* voor staal P/9033

<b>Evolutiestadium</b>	<b>Aantal</b>
Trofozoïet	130
Gametocyt	4
Volwassen vorm	1
<b>Totaal</b>	<b>135</b>

Niet alle laboratoria gaven het aantal parasieten weer.

Voor de trofozoïeten antwoordden drie laboratoria 20‰, vier 25‰, vijf 50‰, zes 100‰ en 109 laboratoria >100‰

95 laboratoria zouden het staal in routine naar een referentiecentrum doorsturen voor (bevestiging van) de identificatie: 69 laboratoria die *P. falciparum* antwoordden, 23 laboratoria die *Babesia* species antwoordden, het laboratorium dat *P. falciparum* + *Babesia* species antwoordde en 1 van de laboratoria die het staal niet kon beoordelen.

### **5.3 Staal P/12526**

De 169 laboratoria leverden 173 antwoorden in. 165 laboratoria antwoordden één parasiet en 4 laboratoria 2 parasieten.

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven :

**Tabel 5.3.1.** Resultaten voor staal P/12526

<b>Resultaat</b>	<b>Aantal</b>
<i>Plasmodium ovale</i>	85
<i>Plasmodium non-falciparum</i>	53
<i>Plasmodium species</i>	1
<i>Plasmodium malariae</i>	19
<i>Plasmodium vivax</i>	9
<i>Plasmodium falciparum</i>	6
<b>Totaal</b>	<b>173</b>

De laboratoria die de combinatie van 2 parasieten vermeldden, antwoordden respectievelijk “*P. non-falciparum* + *P. ovale*”, “*P. non-falciparum* + *P. malariae*”, “*P. ovale* + *P. vivax*” en “*P. falciparum* + *P. vivax*”.

Het laboratorium dat *Plasmodium species* antwoordde, vermeldde dat “*Plasmodium species*-identificatie dient door ter zake gespecialiseerd labo (bvb. ITG) te gebeuren; bij een klinisch staal voeren wij steeds een antigeen-sneltest uit, waardoor er onmiddellijk een onderscheid *P. falciparum* / *non-falciparum* kan gemaakt worden.”.

15 laboratoria die *Plasmodium non-falciparum* antwoordden, vermeldden in een opmerking dat het vermoedelijk *P. ovale* betreft (daarnaast drie vermeldden *P. vivax* en één *P. malariae*). Eén laboratorium vermeldde dat in routine de Ag-test uitgevoerd wordt en het staal doorgestuurd wordt voor PCR, en één laboratorium dat in routine de diagnose aangevuld wordt met moleculaire testen.

Twee laboratoria die *P. ovale* antwoordden, vermeldden dat in routine het resultaat van de Ag-test eveneens in rekening gebracht wordt.

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Plasmodium ovale* worden in tabel 5.3.2. weergegeven. 19 laboratoria hebben 1 evolutiestadium geantwoord, 45 laboratoria hebben 2 evolutiestadia geantwoord en 21 laboratoria hebben 3 evolutiestadia geantwoord.

**Tabel 5.3.2.** Evolutiestadia voor *Plasmodium ovale* voor staal P/12526

Evolutiestadium	Aantal
Trofozoïet	77
Gametocyt	42
Schizont	41
Rijpe of oudere schizont	7
Jonge schizont	5
<b>Totaal</b>	<b>172</b>

De combinaties van evolutiestadia voor *Plasmodium ovale* worden in tabel 5.3.3. weergegeven.

**Tabel 5.3.3.** Combinaties van de evolutiestadia die voor *Plasmodium ovale* voor staal P/12526 geantwoord werden

Aantal evolutiestadia	Evolutiestadium	Aantal laboratoria
1 evolutiestadium	Trofozoïet	12
	Gametocyt	4
	Schizont	3
2 evolutiestadia	Trofozoïet + schizont	20
	Trofozoïet + gametocyt	18
	Trofozoïet + oudere schizont	4
	Trofozoïet + jonge schizont	2
	Gametocyt + jonge schizont	1
3 evolutiestadia	Trofozoïet + gametocyt + schizont	17
	Trofozoïet + gametocyt + jonge schizont	1
	Trofozoïet + gametocyt + oudere schizont	1
	Trofozoïet + schizont + oudere schizont	1
	Trofozoïet + jonge schizont + oudere schizont	1
<b>Totaal</b>		<b>85</b>

Niet alle laboratoria gaven het aantal parasieten weer.

Eén laboratorium gaf geen aantal per evolutiestadium weer, doch antwoordde dat er overall 15‰ parasieten aanwezig waren.

Voor de overige laboratoria wordt een overzicht van de aantallen per evolutiestadium weergegeven in tabel 5.3.4.

**Tabel 5.3.4.** Aantal parasieten per evolutiestadium voor *Plasmodium ovale* voor staal P/12526

%o	<i>N labos</i>				
	Trofozoïet	Gametocyt	Schizont	Oudere schizont	Jonge schizont
<1	10	7	6	1	1
1	8	4	8	1	
1 à 2	16	7	2		1
2	4	2	1	1	
2 à 3	5	2	3		1
3	3	2	3		
3 à 4	8	5	4	4	
4		1			
5	10		3		
6					
7	1				
8	1	1	1		

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Plasmodium non-falciparum* worden in tabel 5.3.5. weergegeven. 12 laboratoria hebben 1 evolutiestadium geantwoord, 30 laboratoria hebben 2 evolutiestadia geantwoord en 11 laboratoria hebben 3 evolutiestadia geantwoord.

**Tabel 5.3.5.** Evolutiestadia voor *Plasmodium non-falciparum* voor staal P/12526

Evolutiestadium	<i>Aantal</i>
Trofozoïet	48
Schizont	29
Gametocyt	24
Rijpe of oudere schizont	2
Jonge schizont	1
<b>Totaal</b>	<b>105</b>

De combinaties van evolutiestadia voor *Plasmodium non-falciparum* worden in tabel 5.3.6. weergegeven.

**Tabel 5.3.6.** Combinaties van de evolutiestadia die voor *Plasmodium non-falciparum* voor staal P/12526 geantwoord werden

Aantal evolutiestadia	Evolutiestadium	Aantal laboratoria
1 evolutiestadium	Trofozoïet	8
	Schizont	2
	Gametocyt	1
	Niet gepreciseerd	1
2 evolutiestadia	Trofozoïet + schizont	16
	Trofozoïet + gametocyt	11
	Gametocyt + schizont	1
	Trofozoïet + oudere schizont	2
3 evolutiestadia	Trofozoïet + gametocyt + schizont	10
	Trofozoïet + gametocyt + jonge schizont	1
<b>Totaal</b>		<b>53</b>

Niet alle laboratoria gaven het aantal parasieten weer. Een overzicht van de aantallen per evolutiestadium wordt weergegeven in tabel 5.3.7.

**Tabel 5.3.7.** Aantal parasieten per evolutiestadium voor *Plasmodium non-falciparum* voor staal P/12526

	‰	N labo's				
		Trofozoïet	Gametocyt	Schizont	Oudere schizont	Jonge schizont
<1	11	2	1	1	1	1
1	2	3	1			
1 à 2	6	1	2			
2	2		2			
2 à 3	3	3	1			
3						
3 à 4	5	6	6			
4			1			
5	4	1	2			
6	1	1				
7						
8	2		1			
5 à 10	4	1	5			
10	3	2	1	1		
12	1					
15	3		1			
20			1			
25			1			

111 laboratoria zouden het staal in routine naar een referentiecentrum doorsturen voor (bevestiging van) de identificatie: 45 laboratoria die *P. ovale* antwoordden, 44 laboratoria die *P. non-falciparum* antwoordden, 12 laboratoria die *P. malariae* antwoordden, 4 laboratoria die *P. vivax* antwoordden, 2 laboratoria die *P. falciparum* antwoordden, het laboratorium dat *Plasmodium* species antwoordde en 3 laboratoria die combinaties antwoordden ("*P. non-falciparum* + *P. ovale*", "*P. non-falciparum* + *P. malariae*" en "*P. ovale* + *P. vivax*").

#### **5.4 Commentaar op de enquête**

Voor staal P/9033 dat trofozoïeten van *Plasmodium falciparum* bevatte, is ter informatie de beoordeling van de resultaten te zien in Tabel 1. De resultaten werden omwille van de slechte kwaliteit van het uitstrijkje echter niet beoordeeld.

**Tabel 5.4.1.** Beoordeling van de resultaten van staal P/9033

Groep	Antwoord	Commentaar	Score (n, %)
Groep I	<i>P. falciparum</i>	Correct	130 (81.8%)
Groep II	<i>P. falciparum</i> + <i>Babesia</i> sp.	Minor error Aanvaardbaar	1 (0.6%)
Groep III	<i>Babesia</i> sp.	Major error*	26 (16.4%)
	<i>Plasmodium</i> species		1 (0.6%)
	Afwezigheid van parasieten		1 (0.6%)

Twee laboratoria verklaarden dat ze bij negatieve malaria snelst geneigd zijn *Babesia* species te antwoorden. Indien de kwaliteit of de kleuring van het uitstrijkje geen goede identificatie toelaten, is het raadzaam het staal naar het referentielaboratorium te sturen waar aanvullende diagnostiek met PCR kan gebeuren.

De beoordeling van de resultaten van staal P/12526 dat trofozoïeten, schizonten en gametocyten van *Plasmodium ovale* bevatte, is te zien in Tabel 2.

**Tabel 5.4.2.** Beoordeling van de resultaten van staal P/12526

Groep	Antwoord	Commentaar	Score (n, %)
Groep I	<i>P. ovale</i>	Correct	83 (49.1%)
	<i>Plasmodium non-falciparum</i> , vermoedelijk <i>P. ovale</i>		15 (8.8%)
Groep II	<i>Plasmodium non-falciparum</i>	Minor error Aanvaardbaar	32 (18.9%)
	<i>P. vivax</i>		7 (4.1%)
	<i>P. malariae</i>		18 (10.7%)
	<i>Plasmodium non-falciparum</i> , vermoedelijk <i>P. vivax</i>		3 (1.8%)
	<i>Plasmodium non-falciparum</i> , vermoedelijk <i>P. malariae</i>		1 (0.6%)
	<i>P. ovale</i> + <i>Plasmodium non-falciparum</i>		1 (0.6%)
	<i>P. ovale</i> + <i>P. vivax</i>		1 (0.6%)
	<i>P. malariae</i> + <i>Plasmodium non-falciparum</i>		1 (0.6%)
Groep III	<i>P. falciparum</i>	Major error*	5 (3%)



---

<i>P. falciparum</i> + <i>P. vivax</i>	1 (0.6%)
<i>Plasmodium</i> species	1 (0.6%)

---

- \* Als een 'major error' wordt beschouwd het missen en het ten onrechte antwoorden van een *P. falciparum* en het antwoorden van *Plasmodium* species zonder uitspraak over de aan- of afwezigheid van *P. falciparum*, dit omwille van de verschillende behandeling van een infectie met *P. falciparum*.

### **6.1 Syphilis serologie**

#### *6.1.1 De stalen*

Er waren 2 gelyofiliseerde plasmamonsters, S/9592 en IS/9607 waarop antistoffen tegen syfilis bepaald dienden te worden.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

Het betreft twee stalen afgenomen op een jongerenbijeenkomst waar de deelnemers de gelegenheid wordt geboden zich anoniem te laten testen op SOI..

De verwachte interpretaties waren:

S/9592: Interpretatie: Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie (code 2)

IS/9607: Interpretatie: Geen antilichamen detecteerbaar (code 1).

#### *6.1.2. De deelnemers*

In het totaal stuurden 148 laboratoria hun enquêteformulier terug: 147 Belgische en Luxemburgse laboratoria en 1 firmalaboratorium. Dit laatste werd niet in de verdere verwerking opgenomen en gebruikte volgende technieken: RecomWell Treponema IgG, RecomWell Treponema IgM, RecomlineTreponema IgG en RecomlineTreponema IgM (alle kits: Mikrogen (verdelers Euribel)); alle resultaten voor staal S/9592 waren positief en alle resultaten voor staal IS/9607 waren negatief.

85.0% van de laboratoria hebben hun antwoord via de Toolkit ingestuurd.

Op staal S/9592 voerden de 147 labo's 341 testen uit, met name 209 treponemale testen (TT) en 132 niet-treponemale testen (NTT).

11 laboratoria voerden 1 test uit, 90 laboratoria voerden 2 testen uit, 35 laboratoria 3 testen, 10 laboratoria 4 testen en 1 laboratorium 5 testen.

Op staal IS/9607 voerden ze 312 testen uit, met name 188 treponemale testen en 124 niet-treponemale testen.

19 laboratoria voerden 1 test uit, 95 laboratoria voerden 2 testen uit, 29 laboratoria 3 testen en 4 laboratoria 4 testen

Volgende tabellen geven een overzicht van het type van de gebruikte testen:

**Tabel 6.1.1.** Overzicht van het type en combinaties van de gebruikte testen (aantal laboratoria).

<i>Aantal testen</i>	<i>Type test</i>	<b>S/9592</b>	<b>IS/9607</b>
1 test uitgevoerd	1 x treponemaal	9	17
	1 x niet-treponemaal	2	2
2 testen uitgevoerd	1 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	86	90
	2 x treponemaal	4	5
3 testen uitgevoerd	2 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	34	28
	3 x treponemaal	1	1
4 testen uitgevoerd	3 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	9	4
	4 x treponemaal	1	-
5 testen uitgevoerd	4 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	1	-
<b>Totaal</b>		<b>147</b>	<b>147</b>

**Tabel 6.1.2.** Samenvatting van het type en combinaties van de gebruikte testen (aantal laboratoria).

<i>Type test</i>	<b>S/9592</b>	<b>IS/9607</b>
Eén test: treponemaal	9	17
Eén test: niet-treponemaal	2	2
Combinatie treponemaal + niet-treponemaal	130	122
Combinatie enkel treponemaal	6	6
<b>Totaal</b>	<b>147</b>	<b>147</b>

### 6.1.3 Gebruikte reagentia

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

**Tabel 6.1.3.** Reagentia gebruikt in de Syphilis-serologie EKE 2014/1.

<b>Fabrikant</b>	<b>Kit</b>	<b>S/9592</b>	<b>IS/9607</b>
Abbott	Architect Syphilis TP	37	37
Alldiag	TPHA Check	1	-
	VDRL Check/RPR	1	-
Axis Shield (verdelers Lucron)	Microsyph TPHA	4	4
	Syphscreen RPR	-	1
BAG (verdelers AlphaOmega)	TPHA-syphilis-Test	1	1
Becton Dickinson	Macro-Vue RPR Card Test	14	13
	VDRL Cardioliipin Ag	2	2
Biokit	RPR-Reditest	29	25
	Syphagen TPHA	2	2
bioMérieux	RPR-nosticon II	30	30
	Trepo-Spot IF	8	3
	TPHA 100	1	-
BioRad	TPHA 200	1	1
	RPR100	1	-
	Syphilis EIA TAb II	1	1
Biosystems (verdelers Medigal)	RPR Carbon	4	4
	TPHA	1	1
Diamed	ID-Pagia Syphilis Antibody Test	3	3
DiaSorin	Liaison Treponema Screen	37	37
	Murex Syfacard-R (RPR)	7	6
	Murex ICE Syphilis	1	1
Diesse (verdelers International Medical)	Chorus Syphilis screen recombinant	8	8
	Chorus Treponema IgG	2	1
	Chorus Treponema IgM	2	1
Euroimmun (verdelers Biognost)	Treponema pallidum ELISA IgG	2	2
	Treponema pallidum ELISA IgM	1	1
	WB Treponema pallidum IgG	1	1
	Euroline WB Treponema pallidum (+cardiolipin) IgG	1	-
	Euroline WB Treponema pallidum (+cardiolipin) IgM	1	-
Fujirebio (verdelers Lameris)	Serodia TPPA	60	54
Innogenetics	Inno-Lia Syphilis Score	2	-
Lab21 Healthcare	TPHA	2	2

Omega Diagnostics (verdelers International Medical)	Immutrep RPR	7	7
	Immutrep Carbon antigen	1	1
	Immutrep TPHA	1	1
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros Immunodiagnosics Products Syphilis TPA	3	3
Oxoid	VDRL test kit	2	2
	TPHA test	1	1
Plasmatec (verdelers Forlab)	RPR Test kit	6	5
Siemens	Immolute 2000 Syphilis screen	12	12
	Cellognost Syphilis H Combipack	6	6
	ADVIA Centaur Syph	2	2
Spinreact	RPR Carbon	28	28
Standard Diagnostics (verdelers Alere health)	Syphilis 3.0 Rapid test	2	2
Viramed	Virablot Treponema IgG	1	-
	Virablot Treponema IgM	1	-
<b>Totaal</b>		<b>312</b>	<b>312</b>

#### 6.1.4 Resultaten

##### Staal S/9592

##### *Niet-treponemale testen*

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat.

Voor de kits met minimum 6 gebruikers die het kwantitatief resultaat geantwoord hebben, hebben we mediaan, minimum en maximum berekend (voor zover de laboratoria in dezelfde eenheid antwoordden). Deze resultaten worden weergegeven in tabel 6.1.4.

**Tabel 6.1.4.** Mediaan, minimum en maximum bekomen voor de niet-treponemale testen voor staal S/9592 voor de meest gebruikte kits.

<b>Kit (eenheid)</b>	<b>N labo's</b>	<b>Mediaan</b>	<b>Minimum</b>	<b>Maximum</b>	<b>Cut-off voor positiviteit</b>
Macro-Vue RPR Card Test (titer)	13	1/64	1/32	1/128	Pos. resultaat in « test well »
RPR Reditest (titer) <sup>1</sup>	28	1/64	1/16	1/256	Pos. resultaat in « test well »
RPR-nosticon II (titer)	29	1/32	1/8	1/64	Pos. resultaat in « test well »
Murex Syfacard-R (titer)	7	1/32	1/32	1/512	Pos. resultaat in « test well »
Immutrep RPR (titer) <sup>2</sup>	7	1/64	1/16	1/128	Pos. resultaat in « test well »
RPR Test kit (titer)	6	1/32	1/16	1/64	Pos. resultaat in « test well »
RPR carbon Spinreact (titer)	25	1/32	1/8	1/20480	Pos. resultaat in « test well »

<sup>1</sup> Tevens bekwam één labo een titer > 1/64

## Treponemale testen

a) Resultaten van de testen die de “totale” antistoffen bepalen.

146 laboratoria bekwamen een positief resultaat. Laboratoria die meer dan één kit gebruikten, bekwamen met alle kits een positief resultaat. Eén laboratorium bekwam een negatief resultaat (Chorus Syphilis screen recombinant kit; de 7 andere gebruikers van deze kit bekwamen een positief resultaat).

Voor de kits met minimum 6 gebruikers die het kwantitatief resultaat geantwoord hebben, hebben we mediaan, minimum en maximum berekend (voor zover de laboratoria in dezelfde eenheid antwoordden). Deze resultaten worden weergegeven in tabel 6.1.5.

**Tabel 6.1.5.** Mediaan, minimum en maximum bekomen voor de treponemale testen voor staal S/9592 voor de meest gebruikte kits.

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off voor positiviteit
Architect Syphilis TP (index)	37	42.10	34.89	57.02	1.00
Trepo-Spot IF (titer)	6	1/1600	1/400	1/12560	Sera diluted 1/5 should be confirmed by a quantitative test. Sera diluted 1/50 correspond to the pathological cut-off generally accepted
Liaison Treponema Screen (index) <sup>1</sup>	22	59.4	27.9	69.6	1.1 (0.9 – 1.1 = borderline)
Chorus Syphilis screen recombinant (index) <sup>2</sup>	6	7.1	2.6	8.5	1.2
Serodia-TPPA (titer) <sup>3</sup>	48	1/20480	1/32	1/327680	Pos. resultaat in « test well »
Immulite 2000 Syphilis screen (index) <sup>4</sup>	11	10.0	8.6	18.2	1.1 (0.9 – 1.1 = indeterminate)

<sup>1</sup> Tevens antwoordden 15 labo's: >70.

<sup>2</sup> Tevens antwoordde één labo 0.6 (het labo dat “negatief” antwoordde) en één labo 65.

<sup>3</sup> Tevens antwoordde één labo >1/1280 en 9 labo's >1/20480.

<sup>4</sup> Tevens antwoordde één labo een index van 12608013

b) Resultaten van de testen die de IgG bepalen

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat.

c) Resultaten van de testen die de IgM bepalen.

Vier laboratoria bekwamen een positief en twee een borderline resultaat.

Opmerking: Enkele laboratoria bepalen IgG en IgM afzonderlijk met de Trepospot IF. Volgende informatie van de firma bioMérieux is de Trepospot IF inderdaad voorzien voor gebruik met de Fluoline "H" (van human), dus voor detectie van totale antistoffen. Het bepalen van IgM en de IgG apart (met de Fluoline M en G) is door bioMérieux niet gevalideerd en wordt ook niet beschreven in de bijsluiter.

### *Interpretaties*

De meeste laboratoria kozen voor "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie (code 2)". Een aantal laboratoria verkozen een andere interpretatie.

Een overzicht van de klinische interpretaties wordt in volgende tabel 6.1.6. weergegeven.

**Tabel 6.1.6.** Interpretatie voor staal S/9592 (syfilis)

<b>Interpretatie</b>	<b>Aantal</b>
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie (code 2)	136
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een niet-actieve infectie (code 3) <sup>1</sup>	2
Zeer recente infectie of vals positief resultaat <sup>2</sup>	1
Aanwezigheid van antilichamen specifiek voor syfilis. Deze antistoffen blijven aanwezig na behandeling. VDRL volgt. <sup>3</sup>	1
Aanwezigheid van antilichamen: blootstelling aan Treponema. Actieve of niet-actieve infectie? Te bevestigen op een 2 <sup>e</sup> afname binnen 2 weken voor evaluatie van de serologische evolutie. <sup>3</sup>	1
Aanwezigheid van antilichamen: suggestief voor actieve of niet-actieve infectie <sup>3</sup>	1
Aanwezigheid van antilichamen, verwijdering van bloedproducten en donor <sup>4</sup>	1
Geen status op basis van deze resultaten, screening van donoren. Bijkomende testen vereist, confirmatie uitgevoerd in referentielabo. <sup>4</sup>	1
Interpretatie onmogelijk gezien enkel TPHA uitgevoerd wordt. <sup>3</sup>	1
Staal wordt doorgestuurd voor RPR/VDRL analyse zodat interpretatie mogelijk is ts actieve vs niet actieve infectie. <sup>3</sup>	1
Complementaire testen noodzakelijk. <sup>3</sup>	1
<b>Totaal</b>	<b>147</b>

<sup>1</sup> Resultaten labo 1: treponemale test en niet-treponemale test positief. Resultaat labo 2: treponemale test positief, geen niet-treponemale test uitgevoerd.

<sup>2</sup> Resultaten: treponemale test negatief, niet-treponemale test positief.

<sup>3</sup> Al deze laboratoria bekwamen volgende resultaten: treponemale test positief, geen niet-treponemale test uitgevoerd.

<sup>4</sup> Antwoord verstrekt door bloedtransfusiecentra die volgende resultaten bekwamen: treponemale test positief, geen niet-treponemale test uitgevoerd.



De beide laboratoria die een borderline resultaat bekwamen voor de IgM, bekwamen een positief resultaat voor TPHA, IgG en een niet-treponemale test en gaven de interpretatie "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie (code 2)".

Zes laboratoria (3 bepaalden TT en NTT, 2 enkel TT en 1 enkel NTT) vermeldden dat ze het staal zouden doorsturen voor confirmatie en/of bijkomende testen. Twee laboratoria (die beiden TT en NTT bepaalden) vermeldden dat ze de clinicus zouden contacteren met de vraag naar klinische informatie; één van beide vermeldde tevens dat het staal zou doorgestuurd worden voor confirmatie of immunoblot en dat een 2<sup>e</sup> staal zou gevraagd worden na 3 maanden om de VDRL-titer op te volgen.

#### *Uitvoering in routine*

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

- |                            |          |
|----------------------------|----------|
| ➤ 1 TT (wel 2 TT + 1 TNT): | 2 labo's |
| ➤ 1 TT (wel 1 TT + 1 TNT): | 3 labo's |
| ➤ 1 TNT (wel 1 TT):        | 1 labo   |
| ➤ 1 TT (enige test):       | 1 labo   |

## Staal IS/9607

### *Niet-treponemale testen*

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat.

### *Treponemale testen*

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat, ongeacht de "aard" (totale As, IgG, IgM) van de test. Laboratoria die meer dan één kit gebruikten, bekwamen met alle kits een negatief resultaat.

### *Interpretaties*

Alle laboratoria kozen voor "Geen antilichamen detecteerbaar (code 1).".

Eén laboratorium (dat enkel een TT uitvoerde) gaf een opmerking: "Geen blootstelling in het verleden. Dit resultaat laat niet toe om een acute syfilis in een vroegtijdig stadium uit te sluiten. Te controleren binnen 2 weken als risicofactoren aanwezig zijn."

### *Uitvoering in routine*

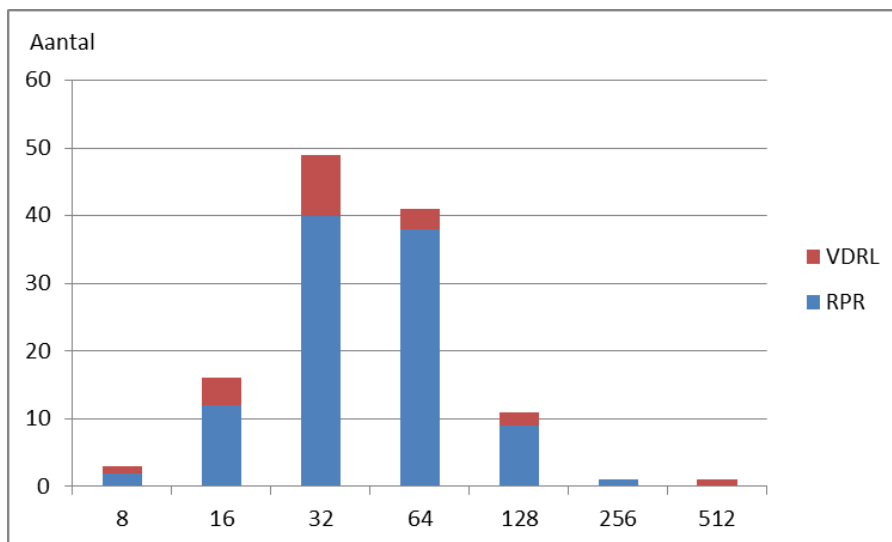
Een aantal laboratoria vermeldde dat ze een aantal testen niet in routine zouden uitvoeren:

- |                                |           |
|--------------------------------|-----------|
| ➤ 2 TT + 1 TNT (wel 1 TT):     | 1 labo    |
| ➤ 2 TT (wel 1 TT + 1 TNT):     | 2 labo's  |
| ➤ 2 TT (wel 1 TT):             | 1 labo    |
| ➤ 1 TT + 1 TNT (wel 1 TT):     | 13 labo's |
| ➤ 1 TT + 1 TNT (enige testen): | 2 labo's  |
| ➤ 1 TT (wel 1 TT + 1 TNT):     | 7 labo's  |
| ➤ 1 TT (wel 1 TNT):            | 2 labo's  |
| ➤ 1 TT (wel 1 TT):             | 1 labo    |
| ➤ 1 TT (enige testen):         | 1 labo    |
| ➤ 1 TNT (wel 2 TT):            | 1 labo    |
| ➤ 1 TNT (wel 1 TT):            | 11 labo's |

### 6.1.5 Commentaar op de resultaten van het onderzoek

Voor staal S/9592 werd met zo goed als alle technieken die treponemale antilichamen opsporen, een positief resultaat verkregen dat duidelijk boven de cutoff van de methode lag. Ook alle resultaten van de niet-treponemale testen waarvan een titer gerapporteerd werd, lagen boven de cutoff van 1/4. In figuur 1 is de verdeling te zien van de resultaten van de niet-treponemale testen. Positieve resultaten zonder vermelding van een titer werden buiten beschouwing gelaten. De resultaten 1/10, 1/40 en >1/64 zijn niet opgenomen in de figuur evenals het resultaat 1/20480, waarvan vermoed wordt dat dit het resultaat van de treponemale test betreft. De titer van de niet-treponemale test is geen absoluut gegeven. Belangrijk is dat de niet-treponemale testen binnen hetzelfde laboratorium niet te veel variatie vertonen vermits de test gebruikt wordt om het effect van therapie na te gaan (1).

Figuur 1. Verdeling van de titer van RPR/VDRL



De meeste interpretaties zijn te begrijpen in functie van de uitgevoerde testen en op een paar laboratoria na werd door alle laboratoria die zelf geen niet-treponemale test uitvoerden, duidelijk aangegeven dat deze nodig is om het stadium van de ziekte te bepalen (1).

Eén labo antwoordde 'aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een niet-actieve infectie' hoewel zowel de treponemale als de niet-treponemale test sterk positief waren.

Eén labo dat enkel een treponemale test uitvoerde, gaf aan een opvolgstaal te vragen voor evaluatie van de serologische evolutie. Hoewel niet uitgesloten is dat dit soms nuttig kan zijn, is het in de eerste plaats aangewezen om een niet-treponemale test uit te voeren op het beschikbare staal.

Eén labo met een sterk positieve RPR en een (vals-)negatief resultaat van de treponemale test die totale antistoffen opspoot, gaf als opmerking dat dit een zeer recente infectie of een vals-positief resultaat van de RPR kan zijn. Hoewel de combinatie van hoge RPR ( $\geq 1/16$ ) en negatieve treponemale test mogelijk is (2), is ze toch zeer ongewoon en moet ze een belletje doen rinkelen. Vals-positieve reacties zijn doorgaans minder sterk positief (in onze ervaring zelden een titer hoger dan 1/8) en methoden die totale antistoffen (en dus IgM-antilichamen) detecteren worden doorgaans sneller positief dan niet-treponemale testen (3,4).

Marjan Van Esbroeck, ITG Antwerpen

## Referenties

---

1. French P, Gomberg M, Janier M, Schmidt B, van Voorst Vader P, Young H. IUSTI: 2008 European Guidelines on the Management of Syphilis. *Int J STD AIDS*. 2009 May;20(5):300-9.
2. Maves RC, Dean K, Gadea N, Halsey ES, Graf PC, Lescano AG. False-positive rapid plasma reagin testing in patients with acute *Plasmodium vivax* malaria: A case control study. *Travel Med Infect Dis*. 2013 Oct 30. [Epub ahead of print]
3. Seña AC, White BL, Sparling PF. Novel *Treponema pallidum* serologic tests: a paradigm shift in syphilis screening for the 21st century. *Clin Infect Dis* 2010;51:700-8.
4. Knaute DF, Graf N, Lautenschlager S, Weber R, Bosshard PP. Serological response to treatment of syphilis according to disease stage and HIV status. *Clin Infect Dis*. 2012 Dec;55(12):1615-22

### 6.1.6 Antwoorden op de vragenlijst en richtlijnen

We ontvingen ingevulde vragenlijsten van 84 laboratoria, waarvan 3 ons antwoordden dat ze geen syfilisserologie uitvoerden. Van de 81 laboratoria passen 76 laboratoria zowel non-treponemale (RPR, VDRL) als treponemale testen (*T. pallidum* Particle Agglutination (TPPA), *T. pallidum* Hemagglutination (TPHA), immunoassays) toe. Vijf laboratoria voeren enkel treponemale testen uit. Slechts 45 laboratoria werken volgens een algoritme. Enkele laboratoria geven als commentaar mee dat de analyses worden uitgevoerd zoals aangevraagd door de arts.

Wat betreft de algoritmes die toegepast worden in de Belgische laboratoria is er geen echte eenduidigheid: in het algemeen blijkt het 'reverse' algoritme, waarbij een treponemale test eerst gebruikt wordt, aan belang te winnen. Een mogelijke verklaring is het toenemend gebruik van automaten (51/81 laboratoria). Deze vaststelling geldt ook in andere Europese landen. De automatisering laat toe dat er een hoger aantal stalen gelijktijdig getest worden en is dus uiterst geschikt voor screening van asymptomatische patiëntengroepen of bloeddonoren. Het nadeel is echter dat zowel personen met een behandelde als met een actieve syfilis reactief testen. Vroege infecties worden wel eerder opgepikt met de recentere methoden zoals Treponemal Enzyme Immunoassay (EIA), Chemiluminescence Immunoassay (CIA), Immunometrische Immunoassay (IIA) vergeleken met het klassieke test algoritme, waarbij eerst een RPR wordt uitgevoerd en de reactieve stalen verder getest worden met een TPPA/TPHA. Langs de andere kant riskeert men dan wel weer een verhoogd aantal vals reactieve resultaten in populaties met een lage syfilis prevalentie.

Het 'reverse' algoritme wordt al langer toegepast in de Verenigde Staten, niettegenstaande de Centers for Disease Control and Prevention (CDC) in 2011 nog aanbeval om het klassieke test schema te gebruiken, dit net om vals positieve resultaten te voorkomen. Indien er dan toch een reverse algoritme wordt gebruikt dan is de aanbeveling van de CDC om reactieve EIA, CIA, IIA resultaten te testen met een 'kwantitatieve' non treponemale test, en de discordante resultaten verder te testen met een TPPA/TPHA. Patiënten met discordante resultaten en een reactieve TPPA/TPHA hebben een recente of gewezen syfilis infectie, bij patiënten met een niet-reactieve TPPA/TPHA is een syfilis infectie het minst waarschijnlijk. Hierbij moet er wel een kanttekening gemaakt worden. De TPPA/TPHA is minder gevoelig in het oppikken van recente infecties vergeleken met EIA, CLIA, IIA. Men riskeert dus bij gebruik van de reverse algoritmes de zeer vroege infecties serologisch te missen daar ze niet geconfirmeerd worden door de TPPA/TPHA. In deze gevallen is een IgM assay meer aangewezen ter bevestiging van de recente infecties, of bij gebrek hiervan zal men aanraden een nieuw staal te testen 3 tot 4 weken later. Uiteraard moet men de serologische resultaten van de syfilis tests steeds interpreteren in het kader van de klinische tekens.

Voor de opvolging van de infectie na behandeling blijft de RPR/VDRL test de enige geldige test. Een viervoudige daling van de titer na behandeling binnen een tijdspanne van 3 maanden (waarbij het vorige staal opnieuw wordt mee getest) is indicatief voor een geslaagde behandeling.

Op dit ogenblik worden de Europese richtlijnen betreffende de diagnose en behandeling van syfilis herzien. Mogelijks worden er verschillende aanbevelingen geformuleerd afhankelijk van de gebruikte screening test (non-treponemale versus treponemale versus EIA, CIA, IIA).

Tot slot is het nuttig te weten dat sinds 2009 de European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), syfilis definieert aan de hand van volgende laboratorium criteria:

- \* Aantonen van treponemen door middel van donker veld microscopie
- \* Aantonen van *T pallidum* door middel van een directe fluorescentie antilichamen test
- \* Aantonen van treponemen door middel van PCR
- \* Detectie van *T pallidum* antilichamen door middel van TPHA, TPPA, EIA en  
Bijkomende detectie van *T pallidum* IgM antilichamen, bevestigd met een tweede IgM test van liefst een verschillende firma (antigenen van verschillende oorsprong).

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2002D0253:20120927:EN:PDF.>)

ECDC raadt aan deze definitie te gebruiken voor de aangifte van de syfilis gevallen in Europa, maar andere nationale definities, mits melding ervan, blijven geldig tot nader orde. De Europese definitie is geen richtlijn voor wat betreft de algemene diagnose of opvolging van de infectie na behandeling maar beoogt een uniformiteit van de aangiften op Europees niveau.

Tania Crucitti, ITG, Antwerpen

## **6.2 Influenza antigen**

### *6.1.1 De monsters*

Er werden 3 stalen (Ag/12691, Ag/12692 en Ag/12693) rondgestuurd waarop de bepaling van het influenza-antigen gevraagd werd. De drie stalen waren positief (Ag/12691: influenza A (H3N2), Ag/12692: influenza A (H1N1), Ag/12693: influenza B).

### *6.1.2. De deelnemers*

In het totaal stuurden 101 laboratoria hun antwoordformulier terug: 100 klinische labo's en één firmalaboratorium. Dit laatste gebruikte de Inlu-A&B Respi-strip en de Inlu-A Respi-strip kits (van de firma Coris Bioconcept) met correcte resultaten in alle gevallen maar werd niet opgenomen in de verdere verwerking.

Eén klinisch laboratorium gebruikte enkel PCR testen, twee laboratoria gebruikten een Ag-test en een PCR-test. De resultaten van de PCR-testen waren correct, doch gezien de enquête gericht was op de Ag-testen worden deze resultaten van de PCR evenmin in de verdere verwerking opgenomen.

Van de 99 labo's die Ag-testen gebruikten, hebben 98 één test gebruikt en één labo 2 testen (voor de drie stalen,). In totaal hebben voor elk staal 99 laboratoria dus 100 resultaten geleverd.

82.8% van de laboratoria hebben hun antwoord via de elektronische database (Toolkit) ingestuurd.

### *6.1.3. Gebruikte reagentia*

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

**Tabel 6.1.4.** Reagentia gebruikt voor de bepaling van het influenza antigen (EKE 2014/1)

<b>Fabrikant</b>	<b>Reagens</b>	<b>Ag/12691</b>	<b>Ag/12692</b>	<b>Ag/12693</b>
Alere health	BinaxNOW Influenza A & B	36	36	36
	Clearview Exact Influenza A and B	2	2	2
All Diagnostics	Influenzatop	1	1	1
Becton Dickinson	Directigen Flu A+B Test kit	10	10	10
bioMérieux	bioNexia Influenza A+B	8	8	8
	Argene Anti-influenza A FITC	2	2	-
	Argene Anti-influenza B FITC	-	-	2
Coris Bioconcept	Influ-A&B Respi-strip	17	17	17
	Influ-A Respi-strip	1	1	1
Fujirebio (verdelers Lameris)	Espline Influenza A&B-N	5	5	5
Gecko (verdelers Forlab)	Influenza A/B 2 Panel Test	1	1	1
Meridian	Tru FLU A/B	8	8	8
Millipore (verdelers Biognost)	Simulfluor Respiratory Screen	2	2	2
	Simulfluor Flu A/Flu B	2	2	2
	Respiratory Viral screen DFA	1	1	1
Oxoid	XPect Flu A en B Test	1	1	1
Quidel	Quickvue Influenza A+B test	3	3	3
<b>Totaal</b>		<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>



#### 6.2.4 Resultaten

##### **Staal Ag/12691**

96 laboratoria bekwamen een positief resultaat; 2 gaven aan dat het resultaat met hun techniek (respectievelijk Simulfluor Respiratory screen en Simulfluor Flu A/Flu B) niet-interpreteerbaar was en één labo bekwam met de 2 technieken die het gebruikte (Simulfluor Respiratory screen en Simulfluor Flu A/Flu B) een negatief resultaat.

Van de laboratoria die een positief resultaat bekwamen, vermeldden 87 dat het staal positief was voor influenza A (30 onder hen vermeldden expliciet dat influenza B negatief was). Eén laboratorium vermeldde dat het staal positief was voor influenza A en zwak positief voor influenza B (kit: bioNexia Influenza A+B).

##### **Staal Ag/12692**

94 laboratoria bekwamen een positief resultaat; 2 gaven aan dat het resultaat met hun techniek (respectievelijk Simulfluor Respiratory screen en Simulfluor Flu A/Flu B) niet-interpreteerbaar was en drie laboratoria bekwamen een borderline resultaat. Het laboratorium dat 2 technieken gebruikte bekwam met beide een positief resultaat.

Van de laboratoria die een positief resultaat bekwamen, vermeldden 86 dat het staal positief was voor influenza A (30 onder hen vermeldden expliciet dat influenza B negatief was).

Van de laboratoria die een borderline resultaat bekwamen, vermeldden 2 dat het influenza A betrof.

##### **Staal Ag/12693**

95 laboratoria bekwamen een positief resultaat; 2 gaven aan dat het resultaat met hun techniek (respectievelijk Simulfluor Respiratory screen en Simulfluor Flu A/Flu B) niet-interpreteerbaar was; één labo bekwam met de 2 technieken die het gebruikte (Simulfluor Respiratory screen en Simulfluor Flu A/Flu B) een borderline resultaat. Het labo dat de Influa-Respi-strip gebruikte, bekwam uiteraard een negatief resultaat.

Een overzicht van de typering gegeven door de laboratoria die een positief resultaat bekwamen, wordt weergegeven in tabel 6.2.2.

**Tabel 6.2.2.** Typering van het influenza antigeen (staal Ag/12693)

<i>Type</i>	<b>Aantal labos</b>
B, geen vermelding betreffende A	51
B +, A-	21
B +, A borderline	8
B +, A zwak +	2
B +, A +	4
B +, A vals +	2
Geen precisering	7
<b>Totaal</b>	<b>95</b>

Alle 16 laboratoria die de (borderline/zwak/vals) positiviteit van influenza A vermeldden, gebruikten de BinaxNOW Influenza A & B kit (van de overige 20 gebruikers van deze kit vermeldden 13 Influenza B (zonder een vermelding betreffende Influenza A), gaven 4 geen precisering en vermeldden 3 dat influenza B positief was en influenza A negatief).

Hieronder vindt u de resultaten van het onderzoek dat de firma Alere verrichte op de 3 stalen:

“Thank you for bringing to our attention your observation of false positive results on EQA samples with the Binax NOW Flu A&B part number 416000

The EQA was composed of 3 samples:

Ag/12691: influenza A (H3N2)

Ag/12692: influenza A (H1N1)

Ag/12693: influenza B)

A false positive result was observed on the third sample, the sample that contained only influenza B.

The manufacturer has now completed their evaluation of the product in question with the information you provided and the findings are detailed below.

The returned samples were tested with 2 different lots of the BinaxNOW card test:

Sample 12691: all had valid, Flu A positive, Flu B negative results.

Sample 12692: all had valid, Flu A positive, Flu B negative results.

Sample 12693: all had valid, Flu A and B positive results.

The Flu B line intensities were very strong and the Flu A results were less intense (light). This replicated the customer's observations.

Additional internal FIO PCR testing was performed and no definitive cause was able to be determined. A root cause was not able to be determined; however it appears to be due to the sample. It appears that the titer of the sample is very high. The high titer may be affecting the conjugates and may be causing a "spilling over" or cross-linking into larger particles that are getting physically caught up on the Flu A sample line causing the appearance of the Flu A line.

No further sample or information has been supplied by the customer at this time, however if any anything additional is able to be obtained, additional testing may be performed.

We trust that our investigation has helped to maintain your confidence in our products and we apologise for any inconvenience that this incident may have caused you. “

### 6.2.5 Commentaar op de resultaten van het onderzoek

Het is actueel de eerste keer dat er EKE-stalen vanuit het WIV werden rondgestuurd voor detectie van Ag influenza A/B. Het betrof in deze EKE ronde 3 positieve stalen, meer bepaald WHO-referentiestammen opgekweekt op een MDCK-cel lijn. Dus de matrix betrof geen echte nasopharyngeale aspiraten of BAL-vochten, maar was supernatans van de positieve celweek (na 1 of enkele passages) dat 1 op 100 gedilueerd werd in H<sub>2</sub>O met als doel een Ct-waarde te bekomen van lager dan 26. Men gaat ervan uit dat klinische monsters die lage Ct-waarden in PCR opleveren, op efficiënte manier dienen gedetecteerd te kunnen worden dmv de meerderheid van Ag-detectietesten. De cut-off Ct-waarde waaronder de meerderheid van RIDTs (Rapid Influenza Detectietesten) nog een aanvaardbare gevoeligheid bereiken varieert lichtjes van test tot test, maar ook van stam tot stam (en dus van seizoen tot seizoen).

Ag/12691: A(H3N2) : A/Victoria/361/2011 (1 passage) , Ct 20.34

Ag/12692 :A(H1N1)pdm2009 : A/California/7/2009 (4 passages), Ct 19.83

Ag/12693: B (YAMAGATA) : B/Stockholm/12/2011 (1 passage), Ct 25.85

De meerderheid van de resultaten lag binnen de verwachtingen, al was het hoog aantal vals-positieve Influenza A resultaten bij staal Ag/12693 opmerkelijk en verontrustend. Deze werden allen bekomen door middel van de commerciële test die veruit het meest frequent en wijdverspreid gebruikt wordt in België.

De testkit die voor alle 3 de stalen verantwoordelijk was voor de bekomen “niet-interpreteerbare” resultaten (Simulfluor Respiratory Screen & Simulfluor FluA/FluB) betrof een DFA (Direct Fluorescence Antigen) Assay. Deze testen behoeven inderdaad een mooi celtapijt om de fluorescentie -en dus het aanwezige viraal antigen- op betrouwbare manier te interpreteren. Gezien het hier sterk verdund celweek supernatans betrof in de 3 gevallen, waren de stalen niet geschikt om geanalyseerd te worden met de DFA kits (gezien onvoldoende cellulair materiaal aanwezig). Voor staal Ag/12691 was dit vermoedelijk ook de reden dat met dezelfde 2 DFA kits men besliste om “negatief” te antwoorden: indien geen of onvoldoende cellen aanwezig, zijn er logischerwijze ook geen virale inclusies aantoonbaar in cellen. Het is van groot belang om naar de clinicus duidelijk te antwoorden, en een negatief antwoord heeft mogelijk andere consequenties dan wanneer men “niet-interpreteerbaar” doorgeeft.

RIDTs in point-of-care (POC) formaat laten een influenza-diagnose toe binnen 15-30 minuten en ze zijn vrij specifiek (94-100%) voor het genus influenza, hoewel ze niet in staat zijn om de verschillende influenza A subtypes te onderscheiden (van therapeutisch belang in specifieke kritisch zieke patiënten die antivirale therapie behoeven in de acute fase van infectie). In tegenstelling tot DFA die beduidend hogere analytische gevoeligheden opleveren en tegelijkertijd een inschatting van de kwaliteit van het klinische monster, vereisen POC testen geen extensieve

infrastructuur noch enige expertise. DFA testen uitvoeren voor de detectie van hoog besmettelijke virussen is niet zonder risico voor laboratoriumpersoneel (aerosols), in tegenstelling tot RIDTs in POC formaat die gemakkelijk volledig kunnen uitgevoerd worden in de laminaire flow.

Er zijn tal van factoren die de accuraatheid van RIDTs beïnvloeden, inclusief:

- \* **Klinische tekens en symptomen consistent met influenza**  
De aanwezigheid van klinische tekens en symptomen consistent met influenza verhoogt de pretest probabiteit van influenzavirus infectie, die op zich de betrouwbaarheid van een positief RIDT resultaat opdrijft.
- \* **Prevalentie van de influenza activiteit in de onderzochte populatie**  
De influenza activiteit varieert van jaar tot jaar, en is seizoensgebonden, wat op zich de predictieve waarden van RIDTs op directe manier beïnvloedt.

**Tijdsinterval vanaf ziekte-onset tot afname van respiratoire specimens voor testing**

Het analyseren van monsters afgenomen binnen de 48-72h na ziekte-onset (op moment dat de virale shedding optimaal is) levert meer positieve RIDT resultaten op.

- \* **Type respiratoir staal**
  - o Verschillende RIDTs hebben verschillende specificaties betreffende aanvaardbare staaltypes (e.g. nasopharyngeale, nasale of keel-swab/aspiraats). De kit bijsluiter van de gebruikte RIDT moet goed nagelezen worden om te verzekeren dat een geschikt specimen wordt afgenomen, en de juiste testprocedures worden gevolgd. Sommige testen vereisen staalname dmv speciale swabs (sommige RIDTs moeten een swab gebruiken meegeleverd met de kit; bepaalde commerciële swabs of bepaalde staaltypes kunnen interfereren met RIDT resultaten en zijn dus te vermijden).

Table I. Evaluation of Sensitivities of two RAT in different types of samples (ref. 10)

	Nasopharyngeal aspirate		Nasopharyngeal flocced swab		Throat flocced swab	
	Coris Respi-Strip n=938	BinaxNOW n=877	Coris Respi-Strip n=980	BinaxNOW n=694	Coris Respi-Strip n=433	BinaxNOW n=183
Compared to viral culture	58.3% n=822	66.5% n=661	36.2% n=906	33.2% n=532	12.9% n=378	10.6% n=143
Compared to RT-PCR InflA	53.0% n=290	65.8% n=428	34.1% n=662	31.6% n=462	9.0% n=209	13.9% n=54
Compared to CDC RT-PCR A/H1N1	57.1% n=39	67.7% n=302	37.6% n=144	38.7% n=394	11.0% n=55	20.8% n=53

o RIDTs dienen uitgevoerd met geschikte virale transport media of alternatieve media, consistent met de test specificaties, in geval dat testuitvoering op een verschillende locatie plaatsvindt dan waar afname gebeurde.

o Afname van een kwalitatief hoogstaand respiratoir monster\*\* (o.a. nasopharyngeale of nasale swab/aspiraats/wash of gecombineerde nasopharyngeale/keel swab specimens) zal eveneens de accuraatheid van de RIDT resultaten verhogen..

o Sommige RIDTs verbruiken het volledige staal in die ene analyse. Overweeg in zulke gevallen steeds een tweede specimen te collecteren voor confirmatie dmv virale kweek of RT-PCR.

\* **Leeftijd van de patiënt**

Belangrijke verschillen in sensitiviteit van RIDTs tussen immunocompetente volwassenen en kinderen zijn voornamelijk gerelateerd aan de verhoogde virale shedding aanwezig in jonge patiënten, samengaand met de anatomisch smallere luchtwegen waardoor in verhouding een hogere concentratie aan pathogeen wordt teruggevonden op die plaatsen. Bijkomend zien we een hogere expertise van pediatrisch verpleegkundigen en pediaters om nasopharyngeale stalen voor virale diagnostiek af te nemen.

- \* **Circulerend Influenzavirus (type, subtype,...)** varieert van seizoen naar seizoen en beïnvloedt niet enkel de performantie van RIDTs (zie tabel 1), maar tevens de opbrengst in virale kweek (variabele manier van destructie van celtapijt, snelheid en agressiviteit van replicatie in gekozen cellen, groeipotentieel op specifieke cellen varieert ivf stam,...)

**Table I. Performance of Influenza A RAT (compared to culture) in function of the circulating subtype**

Influenza Season	Predominant Subtype	Number of Respiratory Samples	Sensitivity RAT (%)		Specificity RAT (%)	
			Coris*	BinaxNOW**	Coris	BinaxNOW
2006-2007	A/H3N2	1171 <sup>Δ</sup>	81.2	79.7	96.3	98.1
2007-2008	A/H1N1	3130 <sup>Δ</sup>	56.0		99.8	
2008-2009	A/H3N2	2375 <sup>Δ</sup>	66.0		99.5	
2009-2010	A/H1N1v2009	5046	36.6 <sup>1</sup>	47.0 <sup>2</sup>	99.7 <sup>1</sup>	98.7 <sup>2</sup>
2010-2011	A/H1N1v2009	3491		61.0		98.9

\* Coris Inlu-A&B Respi-Strip; \*\* BinaxNOW Influenza A&B; <sup>Δ</sup> >93% of samples: nasopharyngeal aspirates; <sup>1</sup> tested on 2763 samples; <sup>2</sup> on 2883 samples

\* **Accuraatheid van de test in vergelijking met een referentietest ("gold standard" = RT-PCR of virale kweek):**

o Sensitiviteit van RIDT

- Proportie positieve RIDT resultaten op alle positieve resultaten in "gold standard test" (RT-PCR of virale kweek)
- In het algemeen laag tot middelmatig (erg ruime range gezien de vele variabelen die een rol spelen: 10-82%), waarbij de hoogste sensitiviteit gezien wordt igv DFA op pediatrische nasopharynxaspiraten
- RIDTs met lage sensitiviteit zullen negatieve resultaten opleveren in patiënten met influenza (vals-negatief)

o Specificiteit van RIDT

- Proportie negatieve RIDT resultaten op alle negatieve resultaten in gouden standaard test
- In het algemeen erg hoog voor RIDTs (94-100%)
- RIDT met erg hoge specificiteit zal niet frequent positieve resultaten produceren in patiënten zonder influenza-infectie (erg beperkt aantal vals-positieven)-indien men de instructies van firma volgt weliswaar

Het grote aantal vals-positieve influenza A resultaten bij staal Ag/16193 bekomen met de BinaxNOW test van Alere Health was volgens de producent te wijten aan de verdunningsmatrix, nl. H<sub>2</sub>O. Dit had een gebufferd medium moeten zijn.

\*\* De kwaliteit van klinische monsters is een cruciale determinerende factor voor virale diagnose. Overtuigende en significante verschillen in performantiekarakteristieken van RIDTs worden bekomen in verschillende staaltypes, duidelijk aantonend dat een nasopharynxaspiraatspecimen blijft voor diagnose van respiratoire virale infectie. Hoedanook, afname van nasopharyngeale swabs is een aanvaardbaar alternatief voor epidemiologisch onderzoek gezien het veel makkelijker af te nemen is (zeker in ambulante patiënten), het vereist geen supplementaire uitrusting, wordt beter aanvaard door patiënt zelf en door de ouders en geeft minder aanleiding tot genereren van aerosols dan aspiraten.

M. Reynders, AZ St-Jan, Brugge

## Referenties

---

1. Taylor J, McPhie K, Druce J, Birch C, Dwyer E. (2009) Evaluation of twenty rapid antigen tests for the detection of human influenza A H5N1, H3N2, H1N1 and B viruses. *J Med Virol*;81:1918-1922.
2. Chan KH, Lai S, Poon L, Guan Y, Yuen K, Peiris JSM. (2009) Analytical sensitivity of rapid influenza antigen detection tests for swine-origin influenza virus (H1N1). *J Clin Virol*;45:205-207.
3. Faix DJ, Sherman SS, Waterman SH. (2009) Rapid-test sensitivity for novel swine-origin influenza (H1N1) virus in humans. *N Engl J Med*;361(7):728-729.
4. Hurt AC, Alexander R, Hibbert J, Deed N, Barr IG. (2007) Performance of six influenza rapid tests in detecting human influenza in clinical specimens. *J Clin Virol*;39:132-5.
5. Pollock NR, Duong S, Cheng A, Han LL, Smole S, Kirby JE. (2009) Ruling Out Novel H1N1 Influenza Virus Infection with Direct Fluorescent Antigen Testing. *Clin Infect Dis*; 49(6):e66-8.
6. Petric M, Comanor L, Petti CA. (2006) Role of the laboratory in diagnosis of influenza during seasonal epidemics and potential pandemics. *J Infect Dis*;194 (Suppl 2):S98-110.
7. Playford EG and Dwyer DE. (2002) Laboratory diagnosis of influenza virus infection. *Pathology*; 34:115-125.
8. Uyeki TM, Prasad R, Vukotich C, Stebbins S, Rinaldo CR, Ferng YH, et al (2009) Low sensitivity of rapid diagnostic test for influenza. *Clin Infect Dis*; 48(9):e89-92.
9. Drexler JF, Helmer A, Kirberg H, Reber U, Panning M, Müller M, et al. (2009) Poor Clinical Sensitivity of Rapid Antigen Test for Influenza A Pandemic (H1N1)2009 Virus. *Emerg Infect Dis*; 15(10):1662-4.
10. Reynders M, De Foor M, Maaroufi Y, Thomas I, Vergison A, Debulpaep S, Vandenberg O, Crokaert F. Prospective evaluation of Coris Influa-A&B Respi-Strip and of BinaxNOW Influenza A&B assay against viral culture and real-time PCR assay for detection of 2009 pandemic influenza A/H1N1v in Belgian patients. *Acta Clin Belg*. 2012 Mar-Apr;67(2):94-8.

---

**EINDE**

---

© Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid, Brussel 2015.

Dit rapport mag niet gereproduceerd, gepubliceerd of verdeeld worden zonder akkoord van het WIV.