

**BIOLOGISCHE GEZONDHEIDSRISICO'S
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

**COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE
COMITE VAN EXPERTEN**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE
VOOR ANALYSES KLINISCHE BIOLOGIE**

DEFINITIEF GLOBAAL RAPPORT

MICRO/SERO/PARA

ENQUETE 2023/2

Microbiologie

Corynebacterium diphtheriae
Elizabethkingia anophelis
Pseudomonas aeruginosa
Streptococcus agalactiae

Parasitologie

Enterobius vermicularis
Taenia saginata

Serologie

Hepatitis B serologie
Hepatitis C serologie
Legionella Ag

Sciensano/Micro/Sero/Para/137-NL

Biologische gezondheidsrisico's
Kwaliteit van laboratoria
J. Wytmanstraat, 14
1050 Brussel | België

EXPERTENCOMITE

SCIENSANO					
Secretariaat		TEL:	02/642.55.22	FAX:	02/642.56.45
		e-mail	gl_secretariat@sciensano.be		
Dr. VERNELEN Kris	Enquêtecoördinator	TEL:	02/642.55.29		
		e-mail:	kris.vernelen@sciensano.be		
Dr. CHINA Bernard	Vervanger enquêtecoördinator	TEL:	02/642.53.85		
		e-mail:	bernard.china@sciensano.be		
Experten	Instelling				
Apr. BOEL An	OLVZ Aalst				
Dr. BOELENS Jerina	UZ Gent				
Dr. BOERAS Anca	CLINIQUE ST JOSEPH Liège				
Dr. CAMPS Kim	ZNA Antwerpen				
Dr. DE BEENHOUWER Hans	OLVZ Aalst				
Dr. DE GHELDRE Yves	CHIREC Bruxelles				
Dr. DELFORGE Marie-Luce	ULB ERASME Bruxelles				
Dr. DEPYPERE Melissa	UZ Leuven				
Dr. HUANG Te-Din Daniel	UCL Mont Godinne				
Dr. MEEUX Cécile	CHU Liège				
Dr. MAGERMAN Koen	JESSA ZIEKENHUIS Hasselt				
Dr. PADALKO Elizaveta	UZ Gent				
Dr. REYNDERS Marijke	AZ SINT JAN Brugge				
Dr. TRE HARDY Marie	HOPITAUX IRIS SUD Etterbeek				
Dr. VAN ACKER Jos	AZ ST LUCAS Gent				
Dr. VAN DEN BOSSCHE Dorien	ITG Antwerpen				
Dr. VAN GASSE Natasja	ZNA Antwerpen				
Dr. VERROKEN Alexia	UCL Bruxelles				
Apr. VIJGEN Sara	JESSA ZIEKENHUIS Hasselt				

Delen van van dit rapport werden via mail voorgelegd aan de experts vanaf 23/06/2023.

Dit rapport werd besproken in de vergaderingen van de expertencomités van microbiologie en infectieuze serologie van 07/09/2023.

Dit rapport vervangt de voorlopige versie van het globaal rapport van 25/09/2024.

Autorisatie van het rapport: door Kris Vernelen, enquêtecoördinator

Publicatiedatum : 08/04/2024

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

<https://www.sciensano.be/nl/kwaliteit-van-laboratoria/eke-microbiologie-parasitologie-en-infectieuze-serologie>

Inhoudstafel

I. ALGEMENE BEMERKINGEN	5
II. IDENTIFICATIES	6
2.1. Cultuur M/19772 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
2.2. Cultuur M/19776 <i>Streptococcus agalactiae</i>	7
2.3. Cultuur M/19798 <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	8
2.4. Cultuur M/19801 <i>Elizabethkingia anophelis</i>	10
III. RESULTATEN VAN DE IDENTIFICATIES	12
3.1. cultuur M/19772 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (endotracheale aspiratie)	12
3.2. Cultuur M/19776 <i>Streptococcus agalactiae</i> (hemocultuur)	13
3.3. Cultuur M/19798 <i>Corynebacterium diphtheriae</i> (keelwisser)	14
3.4. Cultuur M/19801 <i>Elizabethkingia anophelis</i> (hemocultuur)	15
IV. ANTIBIOGRAM	16
4.1. Cultuur M/19772 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	17
4.2. Cultuur M/19776 (<i>Streptococcus agalactiae</i>)	24
V. PARASITOLOGIE	28
5.1. De monsters	28
5.2. Resultaten voor staal P/19996	29
5.3. Resultaten voor staal P/19997	31
VI. SEROLOGIE	33
6.1. HBV en HCV Serologie	33
6.1.1. Hepatitis B	33
6.1.1.1. De stalen	33
6.1.1.2. De deelnemers	34
6.1.1.3. Gebruikte reagentia	36
6.1.1.4. Resultaten	39
6.1.1.4.1. Staal IS/16642	39
6.1.1.4.2. Staal IS/16686	42
6.1.2. Hepatitis C	45
6.1.2.1. De stalen	45
6.1.2.2. De deelnemers	45
6.1.2.3. Gebruikte reagentia	46
6.1.2.4. Resultaten	47
6.1.2.4.1. Staal IS/16642	47
6.1.2.4.2. Staal IS/16686	47
6.1.3. Interpretaties voor stalen IS/16642 en IS/16686	48
6.1.3.1. Staal S/16642	49
6.1.3.1.1. Eigenlijke interpretatie	49
6.1.3.1.2. Opmerkingen bij de interpretaties	49
6.1.3.2. Staal IS/16686	51
6.1.3.2.1. Eigenlijke interpretatie	51
6.1.3.2.2. Opmerkingen bij de interpretaties	53
6.1.4. Commentaar op de enquête HBV en HCV	53
6.2. Legionella antigen	56
6.2.1. De monsters	56
6.2.2. De deelnemers	56
6.2.3. Gebruikte reagentia	57
6.2.4. Resultaten	57
6.2.4.1. Staal Ag/19884	57
6.2.4.2. Staal Ag/19908	58
6.2.5. Commentaar	59

I. Algemene bemerkingen

de 2^e evaluatie van het jaar 2023 (enquête 2023/2) werd volgend materiaal verzonden op 23 mei 2023.

1.1. 4 gelyofiliseerde monsters voor identificatie.

Voor 2 monsters werden de resultaten van de gevoeligheidstesten gevraagd.

1.2. Twee fecestalen voor parasitologisch onderzoek.

1.3. Twee stalen voor de bepaling van de **HBV en HCV** serologie en **twee urinestalen** voor de bepaling van het **Legionella Ag**.

AANTAL DEELNEMERS

Het aantal evalueerbare antwoordbulletins bedroeg:

1.	Voor identificatie en antibiogram:	112
2.	Voor parasitologie:	106
3.	Voor de serologie:	
	HBV:	135
	HCV:	135
	Legionella Ag:	108

Alle stalen gebruikt in de EKE zijn voorafgaandelijk goedgekeurd door de leden van de onderscheiden expertencomités, waarbij ook de homogeniteit bewezen werd. De stabiliteit volgt uit de resultaten van de laboratoria.

U kan de overzichten van alle stalen die in de verschillende enquêtes werden verstuurd, raadplegen op onze website onder de rubriek "Domein-specifieke informatie":

<https://www.sciensano.be/nl/kwaliteit-van-laboratoria/eke-microbiologie-parasitologie-en-infectieuze-serologie>

- Bacteriologie: vervolgens klikt u op "Overzicht verstuurd kiemen".
- Parasitologie: vervolgens klikt u op "Overzicht verstuurd parasieten".
- Infectieuze serologie: vervolgens klikt u op "Lijst van de geëvalueerde parameters infectieuze serologie".

II. Identificaties

2.1. Cultuur M/19772 *Pseudomonas aeruginosa*

Het betreft dezelfde *Pseudomonas aeruginosa* stam met een « wild type » gevoeligheidspatroon (multigevoelig) die reeds verstuurd werd in de EKE 2022/2 als indicator van de wijziging naar de nieuwe versie van de EUCAST-richtlijnen (sinds 2020). Wij herinneren aan de verwachte resultaten (volgens de EUCAST-richtlijnen) van de stam als gevoelig aan hoge dosissen (« I » in EUCAST v2023) voor piperacilline-tazobactam, ceftazidime, cefepime, aztreonam, imipenem, ciprofloxacin/levofloxacin ; gevoelig aan de standaard dosissen (« S » in EUCAST v2023) voor meropenem, ceftolozan/tazobactam, ceftazidime/avibactam ; gevoelig aan de standaard dosissen in combinatie met nadere antibiotica (« S » in EUCAST v2023) voor amikacine, tobramycine en colistine.

Volgens deze enquête volgen 97% van 111 deelnemende Belgische deelnemers de EUCAST-richtlijnen. Van deze 108 labo's die EUCAST volgen, verklaren 92% de laatste versies van EUCAST (>2019) te gebruiken. Dit aandeel (een toename in vergelijking met de 56% in april 2022) is zeer aanzienlijk en getuigt van een goede toepassing van de aanbevelingen die verstrekt worden door het National Antibiogram Committee (NAC). Wij stellen eveneens vast dat onder de gebruikers van EUCAST >2019, er een duidelijke vermindering is van het aantal laboratoria (4% tegenover 25% in april 2022) die het antwoord « S » verstrekken voor de antibiotica met een verwacht resultaat « I », wat de goede toepassing van de richtlijnen aantoont.

Daarenboven werd er voorgesteld om in deze EKE 2 nieuwe antibiotica die beschikbaar zijn voor therapeutisch gebruik, ceftolozan/tazobactam en ceftazidime/avibactam, te testen. Ze werden gerapporteerd door respectievelijk 16% en 30% van de laboratoria. Bijna alle resultaten (verwacht S) waren correct.

Wij herinneren er eveneens aan dat voor het testen van colistine, enkel de microdilutie in vloeibare bouillon geschikt en aanbevolen is (diffusiemethoden zijn verboden), waarbij we weten dat *P. aeruginosa* stammen die resistent zijn tegen colistine zeer zeldzaam zijn.

In het kader van de implementaties van de laatste EUCAST-richtlijnen blijven wij de laboratoria aansporen om bijkomende commentaren voor de interpretatie van antibiogrammen (met name betreffende de wijziging van de definitie van de categorie I) toe te voegen aan de rapportering van de resultaten, zeker als de nieuwe definities nog vragen oproepen. Wij suggereren eveneens om de breed spectrum beta-lactam antibiotica (zoals meropenem, ceftazidime/avibactam, ceftolozan/tazobactam) niet als « S » te rapporteren, als de stam « I » is tegen de beta-lactam antibiotica met beperkt spectrum (ceftazidime, cefepime, piperacilline-tazobactam) om een meer gerichte therapeutische keuze te bevorderen. Tijdens deze enquête vermelden respectievelijk 72% en 83% van de laboratoria dat zij het resultaat van ceftazidime/avibactam en ceftolozan/tazobactam op 4am die ze getest hebben, niet systematisch aan de clinicus doorgeven. Daarentegen stellen wij vast ¼ (26%, wat stabiel blijft) van de laboratoria vermeld hebben het resultaat van meropenem niet te antwoorden, terwijl het aangewezen is dat dit aantal zou toenemen door gebruik van een strategie van stapsgewijze rapportering (maskeren van resultaten).

Te-Din Daniel Huang

Referenties :

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Clinical breakpoints version 12.0. In European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2022; Available from: <https://www.eucast.org>

Communication du National Antibiogram Committee (BVIKM - Société Belge d'Infectiologie et de Microbiologie Clinique) <https://www.bvikm.org/national-antimicrobial-committee>

Kahlmeter G, Thilly N, Pulcini C. Selective reporting of antibiotic susceptibility testing results: less is more. *Clinical Microbiology and Infection*. 2021;27:503-505.

2.2. Cultuur M/19776 *Streptococcus agalactiae*

Deze kwaliteitscontrole bevatte een *Streptococcus agalactiae* stam die zonder problemen door de laboratoria geïdentificeerd werd. De bijzonderheid van deze stam lag in het antibiogram dat voor de macroliden en lincosamiden een resistentieprofiel vertoonde van het fenotype L, met name gevoeligheid voor macroliden met een geïsoleerde resistentie tegen clindamycine. Twee resistentiemechanismen kunnen aan de basis liggen van dit fenotype: inactivatie van clindamycine door een nucleotidyl-transferase dat gemedieerd wordt door de *Inu* genen (1,2) of een gecombineerde resistentie tegen lincosamiden, streptograminen A en pleuromutilinen gemedieerd door de transporter ABC, via het gen *IsaC*, vermoedelijk via een efflux-mechanisme (3).

De stam van deze EKE, gekarakteriseerd door het Nationaal Referentie Centrum *Streptococcus agalactiae*, was drager van het gen *IsaC*. Het resistentiefenotype L is eerder zeldzaam. Volgens de gegevens van het NRC *Streptococcus agalactiae*, vertonen slechts 2% van de invasieve stammen die in België in 2018 geïsoleerd werden bij volwassenen een fenotype L. (4)

De meerderheid van de laboratoria hebben correct de geïsoleerde resistentie tegen clindamycine gerapporteerd. Er moet echter een bijzondere opmerking gemaakt worden over de interpretatieregels van de expertsystemen, met name Vitek, die zouden kunnen geconfigureerd worden om foutief erythromycine te corrigeren naar « Resistent » in aanwezigheid van een fenotype L. De aanbeveling bij dit resultaat is om de gevoeligheid van de 2 antibiotica, erythromycine en clindamycine, te controleren via diskdiffusie wat toelaat om het fenotype L te visualiseren en bevestigen.

Het aangeven van invasieve gevallen van *Streptococcus agalactiae* is niet verplicht, het NRC herhaalt echter zijn interesse om de invasieve stammen die in de laboratoria geïdentificeerd worden te ontvangen ten einde de epidemiologische gegevens voor België op een representatieve wijze up to date te houden.

Cécile Meex

Centre National de Référence *Streptococcus agalactiae*

- (1) Achard A, Villers C, Pichereau V, Leclercq R. New *Inu(C)* gene conferring resistance to lincomycin by nucleotidylation in *Streptococcus agalactiae* UCN36. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005 Jul;49(7):2716-9. doi: 10.1128/AAC.49.7.2716-2719.2005. PMID: 15980341; PMCID: PMC1168647.
- (2) Bozdogan B, Berrezouga L, Kuo MS, Yurek DA, Farley KA, Stockman BJ, Leclercq R. A new resistance gene, *linB*, conferring resistance to lincosamides by nucleotidylation in *Enterococcus faecium* HM1025. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999 Apr;43(4):925-9. doi: 10.1128/AAC.43.4.925. PMID: 10103201; PMCID: PMC89227.
- (3) Malbrun B, Werno AM, Murdoch DR, Leclercq R, Cattoir V. Cross-resistance to lincosamides, streptogramins A, and pleuromutilins due to the *Isa(C)* gene in *Streptococcus agalactiae* UCN70. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Apr;55(4):1470-4. doi: 10.1128/AAC.01068-10. Epub 2011 Jan 18. Erratum in: *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Jun;55(6):3065. PMID: 21245447; PMCID: PMC3067124.
- (4) Rapport d'activités CNR – GBS 2018 – Dr. Sc. Rosalie Sacheli, Prof. P. Melin

2.3. Cultuur M/19798 *Corynebacterium diphtheriae*

Dit staal was vergezeld door klinische inlichtingen (“Keelwisser afgenomen bij een patiënt afkomstig uit Afghanistan wegens forse keelpijn, algemene malaise, lichte temperatuurverhoging”) die moest doen vermoeden dat de patiënt aan respiratoire difterie leed, zeker in de context van de huidige epidemie in Europa bij migranten vanuit het Midden-Oosten, hoofdzakelijk Syrië en Afghanistan.

Het ging om een zuivere kweek en de resultaten waren excellent (99% correct), waarschijnlijk omdat de MALDI-TOF MS zonder probleem deze bacterie identificeert. Wat wel verontrustend is dat 12 laboratoria (10.7%) dit staal niet zouden doorsturen naar het NRC terwijl dit absoluut noodzakelijk is om een PCR voor het *tox* gen uit te voeren, gevolgd door een biologische test, de Elek test, om de productie van de difterietoxine te bevestigen (zeldzame stammen bezitten een gemuteerd gen en produceren geen toxine). Het NRC past de nieuwere EUCAST breekpunten voor *C. diphtheriae* en *C. ulcerans* toe die in januari 2023 werden uitgegeven (versie 13.0). Dit is nodig omdat het toepassen van zeer lage breekpunten voor erythromycine heeft aangetoond dat 6% van de *C. diphtheriae* in Europa resistent zijn tegen macroliden en het gen *erm* bezitten terwijl penicilline resistentie uitzonderlijk blijft (een blaOXA-2 gen aanwezig in sommige stammen veroorzaakt geen fenotypische resistentie). Difterie is een meldingsplichtige ziekte, vanaf het klinisch vermoeden, zie bijlage hieronder voor de modaliteiten.

Het genus *Corynebacterium* bevat meer dan 100 species waarvan slechts drie, *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* en *C. pseudotuberculosis* de bacteriofaag kunnen herbergen die het *tox* gen draagt. Kweken voor toxinogene corynebacteria kunnen op uitstrijken van de keel, tonsillen, nasofarynx en verdachte huidletsels worden uitgevoerd, bij voorkeur vóór het starten van antibiotica. Indien mogelijk kan ook een deel van een pseudomembraan en een uitstrijk van de onderliggende mucosa worden gekweekt. Het is belangrijk om het labo te informeren bij vermoeden van difterie, dan kunnen selectieve media worden ingezet. Het staal zou moeten gekweekt worden op een niet selectief medium, meestal schapenbloed agar, en op een selectief medium om de vaak aanwezige commensale flora te remmen. Indien beschikbaar zal men een medium met telluriet gebruiken zoals CTBA (cysteine tellurite bloed agar) of Tinsdale agar, maar een CNA (colistine-nalidixinezuur agar) kan ook voldoen. Er wordt aanbevolen om de kweek aeroob te incuberen, niet in CO₂. Deze kweken worden best in een bioveiligheidskast I gemanipuleerd door personeel dat strikt de vaccinatieboosters respecteert (minstens om de 10 jaar). *Corynebacterium diphtheriae* is een grampositieve, niet beweeglijke staafvormige bacterie die aan één uiteinde een verdikking heeft, waardoor het beeld van een knots ontstaat. De identificatie wordt tegenwoordig meestal d.m.v. MALDI-TOF MS uitgevoerd. Op basis van kolonie morfologie, hemolyse en biochemische reacties (meestal API Coryne), of 16S ribosomaal RNA sequencing, kunnen vier biovars worden onderscheiden: gravis, mitis, intermedius en belfanti. Dit onderscheid is klinisch niet relevant en heeft aan belang verloren nu de stammen d.m.v. genetische methoden worden getypeerd. *C. diphtheriae* biovar belfanti, slechts uitzonderlijk toxinogeen, clusterd apart. Er werd recent voorgesteld deze biovar als een apart species te beschouwen. De stam van deze EQA behoort tot biovar belfanti.

Difterie is bijna verdwenen in landen met hoge socio-economische standaarden zoals België, maar komt nog in landen met lage vaccinatiedekking voor. Van 2012 tot 2021 werden gemiddeld 3 toxinogene stammen door het NRC bevestigd, hoofdzakelijk *C. ulcerans* na nauw contact met huisdieren, vaak in slechte hygiënische omstandigheden. *C. pseudotuberculosis* werd in deze periode niet bevestigd door het NRC. Maar in 2022 ontstond in Europa een epidemie van *C. diphtheriae* infecties bij asielzoekers, vooral de cutane vorm bij jonge mannen afkomstig van Afghanistan of Syrië. In België werden 25 gevallen bevestigd die tot 4 MLST types behoorden. In 2023 blijkt het aantal gevallen te dalen, maar het NRC heeft reeds 6 stammen bevestigd en een niet gevaccineerd meisje van Afghaanse afkomst is aan respiratoire difterie overleden. Zoals andere corynebacteria werd niet toxinogene *C. diphtheriae* ook geassocieerd met endocarditis, vreemd voorwerp infecties, faryngitis en septicemie.

Bijlage:

Brussel (GGC): [Aangifte van overdraagbare ziekten | Gemeenschappelijke Gemeenschapscommissie \(cc-ggc.brussels\)](#)

Vlaanderen (Zorg & Gezondheid): [Een meldingsplichtige infectieziekte aangeven | Zorg en \(zorg-en-gezondheid.be\)](#)

Wallonië (Aviq): [MATRA - Déclaration obligatoire des maladies transmissibles \(sciensano.be\)](#)

2.4. Cultuur M/19801 *Elizabethkingia anophelis*

Het didactisch staal betrof een *Elizabethkingia anophelis*.

De rondgestuurde stam was afkomstig uit hemoculturen, (6/6 flessen positief) afgenomen bij een man met een ICD, opgenomen op intensieve zorgen omwille van cardiogene en septische shock.

Elizabethkingia anophelis is een aerobe, onbeweeglijke gram negatieve staaf die behoort tot de familie van de *Flavobacteriaceae*. Oorspronkelijk (1959) werd het genus als *Flavobacterium meningoseptica* benoemd, in 1994 volgde een reclassificatie naar het genus *Chryseobacterium* en in 2005 naar het nieuwe genus *Elizabethkingia* op basis van 16S rRNA sequencing. Het genus *Elizabethkingia* wordt wereldwijd in de omgeving aangetroffen (zoals in aarde, water, insecten, ...). Het genus bevat meerdere species, waaronder *E. anophelis*, *E. meningoseptica* en *E. miricola* de belangrijkste humane pathogene species zijn. Voornamelijk bij patiënten met onderliggend lijden zoals maligniteiten, diabetes en COPD kan deze bacterie aanleiding geven tot ernstige infecties. *Elizabethkingia* is meermaals beschreven als verwekker van nosocomiale infecties, mede door de eigenschap om biofilms te vormen. *E. meningoseptica* is o.a. al teruggevonden als verwekker van bacteriëmie en meningitis, voornamelijk bij pasgeborenen maar ook in ventilator geassocieerde pneumonie en hemodialyse-catheter geassocieerde infecties. Ook *E. anophelis* is bij gelijkaardige ernstige infecties beschreven, zoals bij pneumonie en catheter gerelateerde infecties.

E. anophelis is het species dat het vaakst teruggevonden wordt in hemoculturen, voornamelijk bij immuungecompromitteerde patiënten, met een hoge mortaliteit. *E. anophelis* is resistent aan de meeste beta-lactam antibiotica, inclusief de carbapenems, door de productie van meerdere chromosomale beta-lactamases (waaronder carbapenemases). Er is ook een intrinsieke resistentie aan polymyxines (colistine) en aan aminoglycosiden. In functie van de gevoeligheidsbepaling zijn o.a. fluoroquinolones, piperacilline/tazobactam en trimethoprim/sulfamethoxazole soms nog therapeutische opties.

De resultaten van deze EQC zijn goed qua genus identificatie, de meerderheid van de laboratoria antwoordt *Elizabethkingia sp.*, vermoedelijk door het ontbreken van *E. anophelis* in de antwoordlijst van de toolkit.

De identificatie van *E. anophelis* tot op species niveau is de laatste jaren sterk verbeterd. Vroeger konden de verschillende species van het genus *Elizabethkingia* niet of nauwelijks onderscheiden worden, en ook de initiële databases van de MALD-TOF MS toestellen waren onvoldoende uitgebouwd om de species goed te onderscheiden. Recente vooruitgang in de genetische beschrijving door WGS en de uitbreiding van de MALDI-TOF MS databases maken het mogelijk om een beter onderscheid te maken tussen *E. anophelis* en *E. meningoseptica*. (Bij de identificatie door MALDI-TOF MS wordt wel het commentaar gegeven dat de verschillende species binnen het genus *Elizabethkingia* een gelijkaardig patroon vertonen en dus moeilijk te onderscheiden zijn).

A Boel, OLVZ, Aalst

Referenties:

J.M. Janda, D.L. Lopez

Mini review: New pathogen profiles: *Elizabethkingia anophelis*

Diagn Microbiol Infect Dis, 88 (2) (2017), pp. 201-205

Y.-H. Cheng, C.-L. Perng, M.-J. Jian, Y.-H. Cheng, S.-Y. Lee, J.-R. Sun, et al.

Multicentre study evaluating matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of clinically isolated *Elizabethkingia* species and analysis of antimicrobial susceptibility

Clin Microbiol Infect . 2019 Mar;25(3):340-345.

Elizabethkingia Infections in Humans: From Genomics to Clinics.

Lin JN, Lai CH, Yang CH, Huang YH.

Microorganisms. 2019 Aug 28;7(9):295.

Opota et al. International Journal of Antimicrobial Agents 49 (2017) 93–97.
Genome of the carbapenemase-producing clinical isolate *Elizabethkingia miricola* EM_CHUV and comparative genomics with *Elizabethkingia meningoseptica* and *Elizabethkingia anophelis*: evidence for intrinsic multidrug resistance trait of emerging pathogens.

III. Resultaten van de identificaties

112 laboratoria (op 113 ingeschrevenen of 99.1%) hebben een antwoord ingevuld. Hoewel in de Toolkit de mogelijkheid voorzien is om “uitbesteed” te antwoorden, zouden wij willen vragen dit 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.** Wij wensen ook te herhalen dat indien u, om welke reden dan ook, problemen ondervindt met een bepaald staal, het steeds mogelijk is om een 2^e staal te vragen gedurende de enquête (of na afloop ter controle van uw resultaten).

De correcte of aanvaardbare resultaten zijn onderlijnd.

3.1. cultuur M/19772 *Pseudomonas aeruginosa* (endotracheale aspiratie)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: “Endotracheale aspiratie met een groot aantal witte bloedcellen bij rechtstreeks onderzoek bij een 60-jaige geïntubeerde patiënt op intensieve zorgen die een pneumopathie ontwikkelt.

Wij vragen u om het staal te behandelen zoals in routine: de identificatie antwoorden tot op het niveau dat u in routine antwoordt en enkel de antimicrobiële gevoeligheidstesten ”

Pseudomonas aeruginosa

112 100%

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

Antwoord	N labo's
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram	1
Wordt niet doorgestuurd	111
Totaal	112

Op de vraag naar het belang van de kiem, antwoordden 6 laboratoria dat de kiem zowel een epidemiologisch belang als een belang vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt heeft. 6 laboratoria antwoordden dat de kiem een epidemiologisch belang heeft en 7 laboratoria dat de kiem een belang heeft vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt.

3.2. Cultuur M/19776 *Streptococcus agalactiae* (hemocultuur)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Een 65-jarige diabetische patiënt meldt zich aan spoedgevallen met een letsel ter hoogte van de teen van de linkervoet en een achteruitgang van de algemene toestand. 2 paren hemoculturen zijn positief.

Wij vragen u om het staal te behandelen zoals in routine: de identificatie antwoorden tot op het niveau dat u in routine antwoordt en enkel het antibiogram uitvoeren indien u dit ook in routine zou uitvoeren."

Streptococcus agalactiae
Streptococcus porcinus

111 99.1%
1

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

Antwoord	N labo's
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram	4
Epidemiologische redenen + andere niet gepreciseerde reden	1
Epidemiologische redenen	35
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram	2
Serotypering	2
Studiedoeleinden	1
Wordt niet doorgestuurd	67
Totaal	112

Op de vraag naar het belang van de kiem, antwoordde 1 laboratorium dat de kiem zowel een epidemiologisch belang als een belang vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt heeft. 25 laboratoria antwoordden dat de kiem een epidemiologisch belang heeft en 1 laboratorium dat de kiem een belang vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt heeft.

3.3. Cultuur M/19798 *Corynebacterium diphtheriae* (keelwisser)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Keelwisser afgenomen bij een patiënt afkomstig uit Afghanistan wegens forse keelpijn, algemene malaise, lichte temperatuurverhoging. **Wij vragen u om het staal te behandelen zoals in routine: de identificatie antwoorden tot op het niveau dat u in routine.**"

<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	111	99.1%
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	1	

Vier laboratoria geven in de vrije tekst aan dat deze kiem een meldingsplicht heeft.

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

Antwoord	N labo's
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram + toxinebepaling	6
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram + andere niet gepreciseerde reden	7
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram	33
Epidemiologische redenen + toxinebepaling	8
Epidemiologische redenen + toxinebepaling + typering	2
Epidemiologische redenen + andere niet gepreciseerde reden	5
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram n + toxinebepaling + typering	1
Epidemiologische redenen	25
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram	8
Toxinebepaling	4
Andere niet gepreciseerde reden	1
Wordt niet doorgestuurd	12
Totaal	112

Op de vraag naar het belang van de kiem, antwoordde 63 laboratoria dat de kiem zowel een epidemiologisch belang als een belang vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt heeft. 30 laboratoria antwoordden dat de kiem een epidemiologisch belang heeft en 2 laboratoria dat de kiem een belang heeft vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt.

3.4. Cultuur M/19801 Elizabethkingia anophelis (hemocultuur)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: “ Stalen afkomstig van een patiënt met een ICD (Implanteerbare Cardioverter Defibrillator). Opname op IZ owv cardiogene en septische shock. 6/6 flessen positief. Dit is een didactisch staal

Wij vragen u om het staal te behandelen zoals in routine: de identificatie antwoorden tot op het niveau dat u in routine.”

De identificatie *Elizabethkingia anophelis* werd bevestigd via 16S seqéncing.

<u>Elizabethkingia anophelis</u>	19	16.9%
<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	15	13.4%
<u>Elizabethkingia species</u>	76	67.9%
<u>Elizabethkingia anophelis</u> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0.9%
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	

Het species *Elizabethkingia anophelis* ontbrak in de aflopende lijst; dit verklaart mogelijk waarom de meerderheid van de laboratoria Elizabethkingia species geantwoord hebben. Een aantal laboratoria heeft in de vrije tekst echter vermeld dat het een *Elizabethkingia anophelis* betreft.

Drie laboratoria vermeldden echter wel dat de MaldiToF geen onderscheid kan maken tussen anophelis, meningoseptica en miricola.

Het laboratorium dat de aanwezigheid van een *Pseudomonas aeruginosa* antwoordde, vermeldde dat deze kiem in de aanrijking aangetroffen werd.

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

Antwoord	N labo's
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram	12
Epidemiologische redenen	3
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram	23
Wordt niet doorgestuurd	74
Totaal	112

Op de vraag naar het belang van de kiem, antwoordden 8 laboratoria dat de kiem zowel een epidemiologisch belang als een belang vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt heeft. 15 laboratoria antwoordden dat de kiem een epidemiologisch belang heeft en 8 laboratoria dat de kiem een belang heeft vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt.

IV. Antibigram

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. De laatste kolom in tabel 1 geeft het aantal laboratoria weer die vermeld hebben dat zij in routine het resultaat van het betreffende antibioticum niet aan de clinicus zouden antwoorden: het is inderdaad mogelijk dat een laboratorium bepaalde antibiotica test maar het resultaat niet (steeds) aan de clinicus antwoordt maar bvb slechts in bepaalde omstandigheden (bvb. rekening houdend met de resultaten van andere antibiotica, of gebruik van een bepaald antibioticum als marker voor andere antibiotica,...).

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

Op staal M/19772 voerde 1 laboratorium geen antibiogram uit: dit laboratorium verklaarde geen antibiogram uit te voeren op *P. aeruginosa*.

Op staal M/19776 voerden 2 laboratoria geen antibiogram uit: één laboratoria dat de reden niet vermeldde waarom het geen antibiogram uitvoerde en één laboratorium dat verklaarde geen antibiogram uit te voeren op streptokokken.

4.1. Cultuur M/19772 (*Pseudomonas aeruginosa*)

Dit staal werd verstuurd om na te gaan hoeveel laboratoria reeds de richtlijnen van EUCAST (meer bepaald de versie van 2020 of recenter) toepassen. Een aantal laboratoria vermeldden dan ook in de vrije tekst dat zij nog niet overgeschakeld zijn of net wel overgeschakeld zijn of dat er altijd hoge dosissen voor bepaalde antibiotica gebruikt worden in hun ziekenhuis.

De verwachte resultaten in onderstaande tabel zijn geïnterpreteerd volgens de EUCAST richtlijnen versie 2023.

Een aantal laboratoria vermeldden in de vrije tekst opmerkingen die aan het patiëntenrapport toegevoegd worden:

- amikacine gevoeligheid wordt gerapporteerd zonder bijkomende commentaar. In het ziekenhuis zijn echter geschiktheidscontroles ingevoerd bij voorschrift van antibiotica, waardoor monotherapie met macroliden niet mogelijk is.
- *P. aeruginosa*: amikacine en colistine: breakpoints in brackets: For these agents, the tradition is to use them in combination with other effective measures, often another active agent, to compensate for the inherent inadequacy of the agent.
- Tobramycine, Amikacine, Colistine (breakpoint "in bracket") --> toevoeging van een commentaar aan het rapport: "- XXX (naam van het antibioticum) moet toegediend worden in associatie met andere agentia, ofwel om de activiteit van het agens te ondersteunen, ofwel om het spectrum van de behandeling te verbreden. In geval van systemische infecties moet het gebruik van XXX ondersteund worden door een andere actieve behandeling."
- Behandeling van *Pseudomonas* species met ciprofloxacin vereist een hoge dosis (2 x 750 mg/d PO). Indien ceftazidime, cefepime of piperacilline-tazobactam worden gerapporteerd met S dan wordt volgende boodschap toegevoegd: "Behandeling van *Pseudomonas* species met ceftazidime, cefepime of piperacilline-tazobactam vereist een hoge dosis"
- De intermediaire gevoeligheid (I) voor Ciprofloxacin/ levofloxacin duidt op een gevoeligheid op voorwaarde dat er een verhoogde concentratie antibiotica ter hoogte van de plaats van infectie bereikt wordt
- Voor de combinatie van dit micro-organisme en piperacilline-tazobactam is er enkel nog I- of R-rapportering mogelijk conform de recentste EUCAST-richtlijnen. DOSERING (indien I): 4 x 4 gram IV (telkens via een verlengd infuus van 3 uur). Voor de combinatie van dit micro-organisme en ceftazidime is er enkel nog I- of R-rapportering mogelijk conform de recentste EUCAST-richtlijnen. DOSERING (indien I): 3 x 2 gram IV. Voor de combinatie van dit micro-organisme en ciprofloxacin is er enkel nog I- of R-rapportering mogelijk conform de recentste EUCAST-richtlijnen. DOSERING (indien I): 3 x 400 mg IV of 2 x 750 mg PO.
- Meropenem bij *Pseudomonas* enkel gerapporteerd als multiresistent (selectieve rapportering)
- Meropenem wordt enkel geantwoord als tazo en cefta R zijn
- Ceftazidime/avibactam en meropenem: gemaskeerd: niet geantwoord in routine voor een "wild type" stam
- Bij *P. aeruginosa* worden aztreonam, ceftazidim-avibactam en ceftolozane-tazobactam enkel gerapporteerd indien het een MDR *P. aeruginosa* betreft.
- Ceftazidime-avibactam, colistine, aztreonam gevoeligheidsbepaling wordt enkel uitgevoerd voor Multi-drug resistente *P. aeruginosa*. Meropenem gevoeligheid wordt enkel gerapporteerd indien piperacilline-tazobactam resistent is. Standaard commentaar onderaan antibiogram: I=GEVOELIG, bij VERHOOGDE EXPOSITIE. Dit betekent dat behandeling met dit antibioticum mogelijk is mits toediening van hoge dosis. Zie <https://www.vitaz.be/antibiotica-doseringstabel>.
- Ceftazidime-avibactam: wordt enkel in tweede lijn getest in geval van multiresistentie en na contact met de infectioloog
- I = gevoelig, verhoogde expositie. Dit betekent dat de kiem behandeld kan worden met antibiotica die als I gecategoriseerd worden, mits hoge dosis (zie doseringstabel antibioticagids)

Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid met meer dan 1 methode. Deze resultaten kwamen in de meeste gevallen overeen; waar dit niet het geval was, zijn deze in onderstaande tabel opgenomen als S/I of I/R.

Tabel 4.1.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/19772 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	S/I	I	I/R	R	Niet in routine
Piperacilline-tazobactam	I	109	8	2 ¹	99	-	-	4
Ceftazidime	I	112	7	1 ²	104	-	-	2
Ceftazidime-avibactam	S	32	31	-	1	-	-	23
Cefepime	I	105	6	-	98	-	1	18
Ceftolozaan-tazobactam	S	18	18	-	-	-	-	15
Meropenem	S	110	107	-	2	-	1	29
Imipenem ³		2	-	-	2	-	-	1
Aztreonam	I	62	4	-	57	-	1	14
Ciprofloxacine	I	107	8	1 ⁴	97	-	1	3
Levofloxacine	I	54	6	-	47	1 ⁵	-	14
Tobramycine	S	62	61	-	-	-	1	19
Amikacine	S	105	102	1 ⁶	1	-	1	6
Gentamicine ⁷		4	4	-	-	-	-	-
Colistine	S	49	49	-	-	-	-	30

¹ Eén laboratorium vermeldde S voor de papieren schijfjes en I voor Vitek 2. Eén laboratorium vermeldde S voor microdilutie en I voor de papieren schijfjes.

² Eén laboratorium vermeldde S voor de papieren schijfjes en I voor Vitek 2.

³ Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor meropenem en imipenem

⁴ Eén laboratorium vermeldde S voor de papieren schijfjes en I voor Vitek 2.

⁵ Eén laboratorium vermeldde I voor de papieren schijfjes en R voor de gradiënt MIC bepaling.

⁶ Eén laboratorium vermeldde S voor de papieren schijfjes en I voor Vitek 2.

⁷ Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor amikacine, tobramycine en gentamicine. Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor amikacine en gentamicine.

Voor de antibiotica waar de overschakeling een invloed heeft op de rapportage vindt u hieronder de gebruikte richtlijnen in functie van het bekomen resultaat.

Tabel 4.1.2. Gebruikte richtlijnen in functie van het bekomen resultaat voor staal M/19772 (*Pseudomonas aeruginosa*).

			Piperacilline-tazobactam	Ceftazidime	Cefepime	Aztreonam	Ciprofloxacine	Levofloxacine
Resultaat I								
	EUCAST							
		2000	1	1	1	1	1	1
		2017	1	1	1	1	1	1
		2019	1	1	-1		1	
		2020	4	4	3	2	3	1
		2021	7	8	8	6	8	6
		2022	44	47	46	21	45	19
		2023	39	40	36	24	36	17
	SFM							
		2021	1	1	1	1	1	1
	CLSI							
		2022	1	1	1	1	1	1
Resultaat I/S ¹								
	EUCAST							
		2021	1					
		2022	1	1			1	
Resultaat S								
	CLSI							
		2018	1	1	1		1	
		2019	1	1		2	1	1
	EUCAST							
		2017	1	1	1		1	
		2019	1	1	1	1	1	
		2020	1	1	1		1	
		2021	2	2	2	1	2	2
		2022	1					3
		2023					1	
Resultaat I/R								
	CLSI							
		2019						1
Resultaat R								
	EUCAST							
		2020			1		1	
		2023				1		

¹ Zie verklaring onder tabel 4.1.1.

Het in de tabellen 4.1.3. tot en met 4.1.9. weergegeven resultaat is het finale resultaat per techniek, na eventuele wijziging via toepassing der expert-regels.

De resultaten en de diameters bekomen door de laboratoria die de papieren schijfjes gebruiken, vindt u in onderstaande tabel.

Tabel 4.1.3. Resultaten bekomen met de papieren schijfjes voor staal M/19772 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Piperacilline-tazobactam	41 (42) ¹	30+6	25	20 – 28	3	39	-
Ceftazidime	42 (44) ²	10	23	20 - 27	3	41	-
Ceftazidime-avibactam	11 (11)	10+4	24	22 – 27	11	-	-
Cefepime	34 (34)	30	28	20 – 31	33	-	1
Ceftolozaan-tazobactam	7 (7)	30+10	27	25 – 30	7	-	-
Meropenem	42 (42)	10	30	15 – 35	39	2	1
Imipenem	1 (1)	10	27	-	-	1	-
Aztreonam	34 (34)	30	27	23- 34	2	31	1 ³
Ciprofloxacine	42 (42)	5	33	21 – 37	3	38	1
Levofloxacine	18 (18)	5	26	19 – 29	2	16	-
Tobramycine	26 (26)	10	23	17 – 25	25	-	1
Amikacine	39 (39)	30	24	15 – 28	37	1	1
Gentamicine	1(1)	10	21	-	1	-	-
Colistine	2 (2)	10	15	15 – 15	2	-	-

¹ Tevens vermeldde 1 laboratorium een lading van 110 µg.

² Tevens vermeldde 1 laboratorium een lading van 30 µg en vermeldde 1 laboratorium een diameter van 2022 mm.

³ Dit laboratorium vermeldde een diameter van 30 mm.

De resultaten bekomen door de laboratoria die de Neosensitabs schijfjes gebruiken, vindt u in onderstaande tabel. Gezien het beperkte aantal (<6) werden er geen statistische berekeningen op uitgevoerd.

Tabel 4.1.4 Resultaten bekomen met de Neosensitabs schijfjes voor staal M/19772 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibioticum	N labo's	S	I	R
Piperacilline-tazobactam	5	-	5	-
Ceftazidime	3	-	3	-
Ceftazidime-avibactam	1	1	-	-
Cefepime	4	-	4	-
Meropenem	4	4	-	-
Aztreonam	1	-	1	-
Ciprofloxacine	4	-	4	-
Levofloxacine	1	-	1	-
Tobramycine	1	1	-	-
Amikacine	4	3	1	-
Colistine	1	1	-	-

De resultaten die met de methoden voor bepaling van de gradiënt MIC (E-test, MICE-test, MIC Test Strip) bekomen werden, zijn samengevat in onderstaande tabel.

Tabel 4.1.5. Resultaten bekomen MIC-waarden met de gradiënt MIC methoden voor staal M/19772 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Piperacilline-tazobactam	1	1 x I	4 mg/L
Ceftazidime	2	2 x I	1.5 mg/L; 2 mg/L
Ceftazidime-avibactam	5	4 x S	0.75 mg/L; 1 mg/L; 1.5 mg/L; 2 mg/L
		1 x I	0.75 mg/L
Cefepime	2	2 x I	1.5 mg/L; 3 mg/L
Ceftolozaan-tazobactam	1	1 x S	0.75 mg/L
Meropenem	2	2 x S	0.75 mg/L; 2 mg/L
Aztreonam	1	1 x I	4 mg/L
Ciprofloxacin	1	1 x I	0.125 mg/L
Levofloxacin	2	1 x I	0.75 mg/L
		1 x R	32 mg/L
Amikacin	1	1 x S	6 mg/L

De resultaten die met microduilutie bekomen werden, zijn samengevat in onderstaande tabel.

Tabel 4.1.6. Resultaten bekomen MIC-waarden met microdilutie voor staal M/19772 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Piperacilline-tazobactam	2	1 x I	4 mg/L
		1 x S	8 mg/L
Ceftazidime	2	2 x I	1 mg/L; 2 mg/L
Ceftazidime-avibactam	6	6 x S	1 mg/L; <2 mg/L; 2 x 2 mg/L; 4 mg/L; 8 mg/L
Ceftolozaan-tazobactam	6	6 x S	2 x ≤0.5 mg/L; 3 x 1 mg/L; <1 mg/L
Meropenem	2	2 x S	0.12 mg/L; 1 mg/L
Imipenem	1	1 x I	1 mg/L
Aztreonam	3	3 x I	2 mg/L; 4 mg/L; 8 mg/L
Ciprofloxacin	2	2 x I	0.06 mg/L; 0.25 mg/L
Levofloxacin	1	1 x I	0.5 mg/L
Tobramycine	3	3 x S	2 x ≤1 mg/L; <2 mg/L
Amikacin	2	2 x S	4 mg/L; 8 mg/L
Colistine	7	7 x S	3 x 1 mg/L; 4 x 2 mg/L

De resultaten bekomen met de Vitek worden weergegeven in onderstaande tabel (de resultaten van Vitek 2 en Vitek 2 compact werden gegroepeerd).

Tabel 4.1.7. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/19772 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibioticum	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/L)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Range (mg/L)
	S	I	R			
Piperacilline-tazobactam	6	45	-	8	49 (51)	≤4 – 8
Ceftazidime	5	47	-	2	51 (52)	≤0.12 ¹ - 2
Ceftazidime-avibactam	1	-	-	2	1 (1)	-
Cefepime	5	45	-	2	49 (50)	≤0.12 ¹ - 2
Ceftolozaan-tazobactam	1	-	-	1	1 (1)	-
Meropenem	51	-	-	0.5	42 (51)	≤0.25 - 1
Aztreonam	2	14	-	4	14 (16)	4 – 8
Ciprofloxacin	6	43	-	≤0.25	47 (49)	≤0.2 - 0.5
Levofloxacin	2	15	-	0.5 & 1	2 x 7 (17)	0.25 – 1
Tobramycine	18	-	-	≤1	18 (18)	-
Amikacin	49	-	-	≤2	49 (49)	-
Gentamicin	3	-	-	≤1	3 (3)	-
Colistine	34	-	-	≤0.5	16 (34)	≤0.5 - 2

¹ Het laboratorium dat de MIC-waarde ≤0.12 mg/L bekwam boor ceftazidime en cefepime gaf de interpretatie I voor deze beide antibiotica.

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 4.1.8. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/19772 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibioticum	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/l)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Range (mg/L)
	S	I	R			
Piperacilline-tazobactam	1	15	-	4	14 (16)	4 – 8
Ceftazidime	1	15	-	2	9 (16)	2 – 4
Ceftazidime-avibactam	6	-	-	2	6 (6)	-
Cefepime	1	16	-	4	11 (17)	2 - 4
Ceftolozaan-tazobactam	1	-	-	≤0.5	1 (1)	-
Meropenem	17	-	-	1	15 (17)	1 – 2
Aztreonam	-	6	-	8	6 (6)	-
Ciprofloxacin	1	16	-	≤0.25	10 (17)	≤0.125 – 4
Levofloxacin	2	12	-	≤0.5	13 (14)	≤0.25 - ≤0.50
Tobramycine	13	-	-	≤1	13 (13)	-
Amikacin	17	-	-	≤4	17 (17)	-
Colistine	2	-	-	≤1	2 (2)	-

Vijf laboratoria hebben Microscan gebruikt voor de bepaling van de gevoeligheid. De resultaten worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 4.1.9. Resultaten bekomen met de Microscan voor M/19772 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibioticum	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/l)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Range (mg/L)
	S	I	R			
Piperacilline-tazobactam	-	5	-	≤8	4 (5)	≤4 - ≤8
Ceftazidime	-	5	-	≤1 & 2	2 x 2 (5)	≤1 - 4
Ceftazidime-avibactam	2	-	-	≤2	2 (2)	-
Cefepime	-	4	-	2	4 (4)	-
Ceftolozaan-tazobactam	2	-	-	≤1	2 (2)	-
Meropenem	4	-	-	1	2 (4)	0.25 - 1
Aztreonam	-	4	-	4	4 (4)	-
Ciprofloxacin	-	4	-	0.25	3 (4)	≤0.12 - 0.25
Levofloxacin	-	4	-	≤0.5	4 (4)	-
Tobramycine	4	-	-	≤2	4 (4)	-
Amikacine	4	-	-	≤8	3 (4)	≤4 - ≤8
Colistine	4	-	-	≤2	4 (4)	-

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:

- Piperacilline-tazobactam
 - o S→I
 - Phoenix: 8 labo's
 - Microscan: 2 labo's
- Ceftazidime
 - o S→I
 - Phoenix: 7 labo's
 - Microscan: 2 labo's
- Cefepime
 - o S→I
 - Phoenix: 8 labo's
 - Microscan: 1 labo
- Aztreonam
 - o S→I
 - Phoenix: 2 labo's
 - Microscan: 1 labo
- Ciprofloxacin
 - o S→I
 - Vitek 2: 3 labo's
 - Phoenix: 8 labo's
 - Microscan: 1 labo
- Levofloxacin
 - o S→I
 - Phoenix: 4 labo's
 - Microscan: 1 labo
- Amikacine
 - o S→R
 - Papieren schijfjes: 1 labo

4.2. Cultuur M/19776 (*Streptococcus agalactiae*)

Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid met meer dan 1 methode. Deze resultaten kwamen in de meeste gevallen overeen; waar dit niet het geval was, zijn deze in onderstaande tabel opgenomen als S/I of S/R.

Tabel 4.2.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/19776 (*Streptococcus agalactiae*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	S/I	I	S/R	R	Niet in routine
Penicilline	S	107	107	-	-	-	-	6
Ampicilline	S	46	46	-	-	-	-	3
Amoxicilline ¹		1	1	-	-	-	-	-
Clindamycine	R	98	2	-	-	-	96	1
Erythromycine	S	109	75	2 ²	7	1 ³	24	4
Clarithromycine ⁴		1	1	-	-	-	-	-
Moxifloxacin	S	90	90	-	-	-	-	27
Levofloxacin ⁵		7	2	-	5	-	-	-
Norfloxacin ⁶		5	5	-	-	-	-	3
Tetracycline	R	87	1	-	-	-	86	20
Minocycline ⁷		2	-	-	-	-	2	-
Tigecycline ⁸		1	1	-	-	-	-	1
Vancomycine	S	85	85	-	-	-	-	25
Teicoplanine ⁹		1	1	-	-	-	-	1

¹ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor penicilline en amoxicilline

² Eén laboratorium vermeldde S voor de papieren schijfjes en I voor Vitek 2. Eén laboratorium vermeldde S voor de Neosensitab schijfjes en I voor Vitek 2.

³ Eén laboratorium vermeldde S voor de Neosensitab schijfjes en R voor Vitek 2.

⁴ Eén laboratorium gebruikte de bepaling van de gevoeligheid voor erythromycine om de gevoeligheid van clarithromycine te antwoorden.

⁵ Zes laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor moxifloxacin en levofloxacin. Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor levofloxacin i.p.v. moxifloxacin.

⁶ Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor moxifloxacin en norfloxacin. Drie laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor norfloxacin i.p.v. moxifloxacin.

⁷ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor tetracycline en minocycline. Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor minocycline i.p.v. tetracycline.

⁸ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor tetracycline en tigecycline.

⁹ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor vancomycine en teicoplanine

Het in de tabellen 4.2.2. tot en met 4.2.7. weergegeven resultaat is het finale resultaat per techniek, na eventuele wijziging via toepassing der expert-regels.

De resultaten en de diameters bekomen door de laboratoria die de papieren schijfjes gebruiken, vindt u in onderstaande tabel.

Tabel 4.2.2. Resultaten bekomen met de papieren schijfjes voor staal M/19776 (*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
Penicilline	42 (43) ¹	1	23	19 – 28	43	-	-
Ampicilline	6 (6)	2	23.5	23 – 25	6	-	-
Clindamycine	43 (44) ²	2	11	6 – 17	1	-	43
Erythromycine	45 (45)	15	24	15 – 32	40	-	5
Moxifloxacin	25 (25)	5	22	20 – 28	25	-	-
Levofloxacin	4 (4)	5	19	19 – 20	2	2	-
Norfloxacin	5 (5)	10	15	13 – 16	5	-	-
Tetracycline	21 (21)	30	14	6 – 21	-	-	21
Minocycline	2 (2)	30	15	12 – 18	-	-	2
Vancomycine	(23) ³				23	-	-
	21	5	15	13 – 17	21	-	-
	2	30	18	18 – 18	2	-	-

¹ Tevens vermeldde 1 laboratorium lading van 6 µg.

² Tevens vermeldde 1 laboratorium diameter van 0 mm.

³ Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt: laboratoria die de lading 5 µg gebruikten, vermeldden alle de EUCAST-richtlijnen te volgen, laboratoria die de lading 30 µg gebruikten vermeldden de EUCAST- of CLSI-richtlijnen te volgen.

De resultaten en de diameters bekomen door de laboratoria die de Neosensitabs schijfjes gebruiken, vindt u in onderstaande tabel.

Tabel 4.2.3. Resultaten bekomen met de Neosensitabs voor staal M/19776 (*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
Penicilline	6 (6)	1	22	20 – 26	6	-	-
Ampicilline	1 (1)	2	22	-	1	-	-
Clindamycine	7 (7)	2	11	9 – 15	-	-	7
Erythromycine	7 (7)	15	25	21 – 26	5	-	2
Moxifloxacin	2 (2)	5	21.5	20 – 23	2	-	-
Levofloxacin	1 (1)	5	20	-	-	1	-
Tetracycline	4(4)	30	17	16 – 18	-	-	4
Vancomycine	1 (1)	5	15	-	1	-	-

De resultaten die met de methoden voor bepaling van de gradiënt MIC (E-test, MICE-test, MIC Test Strip) bekomen werden, zijn samengevat in onderstaande tabel.

Tabel 4.2.4. Resultaten bekomen MIC-waarden met de gradiënt MIC methoden voor staal M/19776 (*Streptococcus agalactiae*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Penicilline	7	7 x S	0.016 mg/L; 0.047 mg/L; 2 x 0.064 mg/L; 0.084 mg/L; 2 x 0.094 mg/L
Ampicilline	1	1 x S	0.064 mg/L
Clindamycine	4	4 x R	2 mg/L; 2 x 4 mg/L; 8 mg/L
Erythromycine	3	2 x S	2 x 0.25mg/L
		1 x R	0.38 mg/L
Moxifloxacin	2	2 x S	0.25 mg/L; 0.38 mg/L
Tetracycline	1	1 x R	24 mg/L
Vancomycine	3	3 x S	2 x 0.38 mg/L; 0.5 mg/L

De resultaten bekomen met de Vitek worden weergegeven in onderstaande tabel (de resultaten van Vitek 2 en Vitek 2 compact werden gegroepeerd).

Tabel 4.2.5. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/19776 (*Streptococcus agalactiae*).

Antibioticum	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/L)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Range (mg/L)
	S	I	R			
Penicilline	53	-	-	≤0.06	42 (53)	≤0.06 - ≤1
Ampicilline	33	-	-	≤0.25	32 (33)	≤0.25 - ≤1
Amoxicilline	1	-	-	≤0.06	1 (1)	-
Clindamycine	-	-	45	≥1	40 (45)	>0.25 - ≥1
Erythromycine	29	9	18	≤0.12	43 (56)	≤0.12 - ≤0.25
Moxifloxacin	52	-	-	≤0.25	30 (52)	≤0.12 - 0.50
Levofloxacin	1	4	-	1	5 (5)	-
Tetracycline	-	-	55	≥16	49 (55)	>8 - ≥16
Tigecycline	1	-	-	≤0.06	1 (1)	-
Vancomycine	52	-	-	≤0.5	51 (52)	≤0.2 - ≤0.5
Teicoplanine	1	-	-	≤0.12	1 (1)	-

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 4.2.6. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/19776 (*Streptococcus agalactiae*).

Antibioticum	Finaal resultaat			Meest vermeldde MIC waarde (mg/l)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Range (mg/L)
	S	I	R			
Penicilline	12	-	-	≤0.03125	6 (12)	≤0.03 - ≤1
Ampicilline	2	-	-	≤0.25	2 (2)	-
Clindamycine	2	-	10	>0.5	10 (12)	0.5 ¹ - >0.5
Erythromycine	12	-	-	≤0.0625	9 (12)	≤0.06 - 0.125
Moxifloxacin	11	-	-	≤0.25	11 (11)	-
Tetracycline	1	-	10	>4	11 (11)	-
Vancomycine	11	-	-	≤0.5	11 (11)	-

¹ De beide laboratoria die de interpretatie "S" gaven, vermeldden een MIC-waarde van 0.5 mg/L.

Drie laboratoria hebben Microscan gebruikt voor de bepaling van de gevoeligheid. De resultaten worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 4.2.7. Resultaten bekomen met de Microscan voor M19776 (*Streptococcus agalactiae*).

Antibioticum	Finaal resultaat			Meest vermeldde MIC waarde (mg/l)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Range (mg/L)
	S	I	R			
Penicilline	3	-	-	≤0.06	3 (3)	-
Ampicilline	2	-	-	≤0.06 & 0.12	2 x 1 (2)	≤0.06 - 0.12
Clindamycine	-	-	2	>0.5	2 (2)	-
Erythromycine	3	-	-	≤0.06	2 (3)	≤0.06 - ≤0.25
Moxifloxacin	2	-	-	≤0.25	2 (2)	-
Tetracycline	-	-	2	>4	2 (2)	-
Vancomycine	2	-	-	0.5	2 (2)	-

Een aantal laboratoria beschouwden sommige antibiotica als gevoelig op basis van het resultaat bekomen voor andere antibiotica

- ampicilline: 3 laboratoria op basis van penicilline
- clarithromycine: 1 laboratorium op basis van erythromycine
- moxifloxacin: 2 laboratoria op basis van norfloxacin

De meeste laboratoria behielden het ruw resultaat voor het antwoorden van het finale resultaat. Voor erythromycine wijzigden echter enkele laboratoria het ruw resultaat "S" al dan niet op basis van expert regels:

- S→I
 - Vitek: 7 labo's waarvan 1 mede op basis van andere technieken)
- S→R
 - Papieren schijfjes: 5 labo's
 - Neosensitabs schijfjes: 2 labo's (waarvan 1 mede op basis van andere technieken)
 - Vitek: 17 labo's waarvan 2 mede op basis van andere technieken)

5.1. De monsters

Ter gelegenheid van deze enquête werden 2 stoelgangsstalen verzonden. 106 laboratoria (op 107 ingeschreven laboratoria of 99.1%) hebben een antwoord ingegeven.

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/19996

De patiënt is een 36-jarige mannelijke expat die in Ghana verblijft. Hij komt op consultatie wegens witte stukjes die hij in zijn ontlasting vindt.

P/19997

Een 58-jarige dame met een geschiedenis van maagzweren presenteert zich 4 maanden na haar verblijf in Angola met buikpijn.

Staal P/19996 bevatte eieren van *Taenia saginata*.

Dit staal werd reeds verstuurd in de EKE 2015/3 onder staalnummer P/13695.

Het bewijs dat het *T. saginata* betrof werd toen geleverd door PCR; aangezien het onderscheid tussen *T. saginata* en *T. solium* niet gesteld kan worden op basis van de microscopische morfologie, wordt het antwoord Taenia species als correct aanvaard (meerdere laboratoria hebben trouwens de opmerking gegeven dat het niet mogelijk is op louter morfologische basis van de eieren het onderscheid te maken). Het antwoord *T. saginata* kan daarentegen enkel als correct beschouwd worden indien een laboratorium bijkomende testen uitvoerde om dit antwoord te bevestigen.

Het staal bevatte in een geringe concentratie ook cysten van *Blastocystis hominis*. Deze konden echter niet in alle stalen teruggevonden worden.

Staal P/19997 bevatte eieren van *Enterobius vermicularis*.

Dit staal werd reeds verstuurd in de EKE 2016/2 onder staalnummer P/13936.

Deze antwoorden omvatten de parasieten, die alle laboratoria teruggevonden zouden moeten hebben. Het is echter steeds mogelijk dat een aliquot nog andere parasieten bevat.

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

Wij wensen te benadrukken dat indien u geen parasieten waargenomen hebt, u in de toolkit “afwezigheid van parasieten” dient te antwoorden (en niet het antwoord openlaten).

5.2. Resultaten voor staal P/19996

De 106 laboratoria leverden 125 resultaten in. 87 laboratoria vermeldden de aanwezigheid van 1 parasiet en 19 laboratoria de aanwezigheid van 2 parasieten. De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.2.1. Resultaten voor staal P/19996.

Resultaat	Aantal laboratoria
<i>Taenia species</i>	104
<i>Taenia saginata</i>	2
<i>Blastocystis hominis</i>	19
Totaal	125

18 laboratoria die de aanwezigheid van 2 parasieten vermeldden, antwoordden “*Taenia* sp. + *Blastocystis hominis*”. Eén laboratorium antwoordde “*Taenia saginata* + *Blastocystis hominis*”.

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

Tabel 5.2.2. Evolutiestadia voor *Taenia* species voor staal P/19996.

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Ei	101
Cyste	2
Proglottide	1
Totaal	104

Voor *Taenia saginata* vermeldde 1 laboratorium “ei” als evolutiestadium en het andere “bevrucht ei”.

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Blastocystis hominis* worden in onderstaande tabel weergegeven.

Tabel 5.2.3. Evolutiestadia voor *Blastocystis hominis* voor staal P/19996.

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Cyste	13
Oöcyste	2
Ei	1
Volwassen vorm	1
Niet gepreciseerd	2
Totaal	19

De vergelijking tussen stalen P/13695 (EKE 2015/3) en P/19996 (2023/2) wordt in volgende tabel getoond.

Tabel 5.2.4. Evolutie van de antwoorden (uitgedrukt in percentages t.o.v. het aantal laboratoria) over de verschillende enquêtes voor staal P/19996.

Resultaat	P/13695 (2015/3) N = 147	P/19996 (2023/2) N = 106
<i>Taenia species</i>	86.4	98.1
<i>Taenia saginata</i>	6.8	1.9
<i>Taenia solium</i>	0.7	-
<i>Blastocystis hominis</i>	14.3	17.9

18 laboratoria zouden dit staal in routine doorsturen naar een referentiecentrum. 12 die *Taenia sp.* geantwoord hebben en 6 die *Taenia sp.* + *Blastocystis hominis* geantwoord hebben. Vijf laboratoria vermelden expliciet dat dit is om het species van de *Taenia* te bepalen.

5.3. Resultaten voor staal P/19997

105 laboratoria leverden 109 resultaten in. Twee laboratoria antwoordden “afwezigheid van parasieten”, 99 laboratoria antwoordden de aanwezigheid van één parasiet en 4 laboratoria de aanwezigheid van 2 parasieten. Eén laboratorium liet het antwoord open maar gaf de opmerking “Er werden meerdere "parasite like" objecten waargenomen ("kattenogen", 12,5 µm doorsnede), we zouden deze doorsturen naar het referentiecentrum ter confirmatie dat het niet om een parasiet gaat.’

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.3.1. Resultaten voor staal P/19997.

Resultaat	Aantal laboratoria
<i>Enterobius vermicularis</i>	100
<i>Ancylostomatoidea (haakwormen)</i>	1
<i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
<i>Dientamoeba fragilis</i>	1
<i>Giardia lamblia</i>	1
<i>Sarcocystis hominis</i>	2
Afwezigheid van parasieten	2
Geen antwoord	1
Totaal	110

Onderstaande tabel geeft de combinaties van parasieten weer.

Tabel 5.3.2. Combinaties van parasieten geantwoord voor staal P/19997.

N parasieten	Identificaties	N labo's
1	<i>Enterobius vermicularis</i>	96
	<i>Ancylostomatoidea</i>	1
	<i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
	<i>Giardia lamblia</i>	1
		4
2	<i>Enterobius vermicularis</i> + <i>Dientamoeba fragilis</i>	1
	<i>Enterobius vermicularis</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
	<i>Enterobius vermicularis</i> + <i>Sarcocystis hominis</i>	2
Totaal		103

De evolutiestadia voor *Enterobius vermicularis* worden in onderstaande tabel weergegeven.

Tabel 5.3.3. Evolutiestadia voor *Enterobius vermicularis* voor staal P/19997.

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Ei	97
Onbevruucht ei	2
Cyste	1
Totaal	100

Onderstaande tabel geeft de vergelijking van de resultaten weer tussen de verschillende enquêtes waarin dit staal verstuurd werd.

Tabel 5.3.4. Evolutie van de antwoorden (uitgedrukt in percentages t.o.v. het aantal laboratoria) over de verschillende enquêtes voor stalen P/13936 (EKE 2016/2) EN P/19997 (EKE 2023/2)..

Resultaat	P/13936 (2016/2) N = 144	P/19997 (2023/2) N = 106
<i>Enterobius vermicularis</i>	95.2	94.3

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

- 6 laboratoria hebben *Enterobius vermicularis* geantwoord (1 laboratorium vermeldt "voor bevestiging van de oöcysten van *Cryptosporidium*" en 1 laboratorium "wegens de aanwezigheid van multipelen niet-geïdentificeerde elementen van het type coccidia")
- 1 laboratorium heeft "*Enterobius vermicularis* + *Sarcocystis hominis*" geantwoord
- 1 laboratorium heeft "*Enterobius vermicularis* + *Dientamoeba fragilis*" geantwoord (om *Dientamoeba fragilis* te bevestigen)
- 1 laboratorium heeft Ancylostomatoidea geantwoord
- 1 laboratorium heeft *Giardia lamblia* geantwoord
- 1 laboratorium gaf de opmerking "Er werden meerdere "parasite like" objecten waargenomen ("kattenogen", 12,5 µm doorsnede), we zouden deze doorsturen naar het referentiecentrum ter confirmatie dat het niet om een parasiet gaat."

VI. Serologie

6.1. HBV en HCV Serologie

Voor de hepatitisserologie dienden op beide stalen zowel de HBV als HCV serologie uitgevoerd te worden. Voor de interpretatie werd gevraagd de beide parameters (HBV en HCV) samen te beoordelen.

In totaal hebben 136 laboratoria een antwoord ingevuld voor minstens één van beide parameters. 134 laboratoria antwoordden voor de HBV-serologie en de HCV-serologie. Eén laboratorium voerde enkel de HBV-serologie uit en één laboratorium enkel de HCV-serologie. Met andere woorden: 135 resultaten (op 136 ingeschreven laboratoria, of 99.3%) voor zowel HBV als HCV.

6.1.1. HEPATITIS B

6.1.1.1. De stalen

Er werden 2 stalen rondgestuurd: IS/16642 en IS/16686

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

IS/16642 Een 40-jarige patiënt wordt in het ziekenhuis opgenomen met symptomen van geelzucht en gestoorde levertesten. Hij heeft een voorgeschiedenis van langdurig druggebruik.

IS/16686 Een jonge man gaat voor de eerste maal plasma doneren in een transfusiecentrum. Hij vermeldt niets specifiek bij het invullen van de vragenlijst. Zoals gebruikelijk wordt zijn bloed getest op de via bloed overdraagbare infectieuze parameters.

De verwachte resultaten voor HBV waren:

IS/16642

HBV: HBsAg positief
HBsAs negatief
HBcAs positief
HBeAg negatief
HBeAs positief

IS/16686:

HBV: HBsAg negatief
HBsAs negatief
HBcAs negatief
(HBeAg negatief)
(HBeAs negatief)

6.1.1.2. De deelnemers

135 Belgische en Luxemburgse klinische laboratoria hebben dus de hepatitis B serologie uitgevoerd.

Voor staal IS/16642 voerden de laboratoria 596 testen uit die als volgt verdeeld waren:

- HBs Ag:	143 testen
- HBsAg confirmatie:	7 testen
- anti-HBs As:	136 testen
- anti-HBc totale As:	137 testen
- IgM anti-HBc:	3 testen
- HBe Ag:	85 testen
- anti-HBe As:	85 testen

Drie laboratoria voerden 2 testen uit, 43 laboratoria 3 testen, 4 laboratoria 4 testen, 76 laboratoria 5 testen, 3 laboratoria 6 testen, 3 laboratoria 7 testen, 2 laboratoria 8 testen en 1 laboratorium 10 testen.

Voor staal IS/16686 voerden de laboratoria 563 testen uit die als volgt verdeeld waren:

- HBs Ag:	138 testen
- anti-HBs As:	135 testen
- anti-HBc totale As:	134 testen
- IgM anti-HBc:	2 testen
- HBe Ag:	77 testen
- anti-HBe As:	77 testen

Drie laboratoria voerden 2 testen uit, 54 laboratoria 3 testen, 2 laboratoria 4 testen, 73 laboratoria 5 testen, 2 laboratoria 6 testen en 1 laboratorium 10 testen

De combinaties per laboratorium worden in volgende tabel weergegeven.

Tabel 6.1.1. Combinatie van parameters van de hepatitis B serologie.

	Uitgevoerde parameters	IS/16642	IS/16686
2 testen	HBs Ag + HBs As	2	2
	HBs Ag + HBc As	1	1
3 testen	HBs Ag + HBs As + HBc As	42	53
	HBs Ag + HBs As + HBc IgM	1	1
4 testen	HBs Ag + HBs Ag conf + HBs As + HBc As	3	-
	HBs Ag + HBs As + HBe Ag + HBe As	1	1
	HBs Ag + HBs As + 2 HBc As	-	1
5 testen	HBs Ag + HBs As + HBc As + HBe Ag + HBe As	75	72
	2 x HBs Ag + HBs As + 2 x HBc As	1	1
6 testen	2 x HBs Ag + HBs As + HBc As + HBe Ag + HBe As	1	1
	2 x HBs Ag + HBs Ag conf + HBs As + 2 x HBc As	1	-
	HBs Ag + HBs As + 2 x HBc As + HBe Ag + HBe As	1	-
	HBs Ag + HBs As + HBc As+ HBc IgM + HBe Ag + HBe As	-	1
7 testen	HBs Ag + HBsAg conf + HBs As + HBc As + HBc IgM + HBe Ag + HBe As	1	-
	2 x HBs Ag + HBs Ag conf + HBs As + HBc As + HBe Ag + HBe As	1	-
	2 x HBs Ag + HBs As + HBc As+ HBc IgM + HBe Ag + HBe As	1	-
8 testen	2 x HBs Ag +2 x HBs As + 2 x HBc As + HBe Ag + HBe As	1	-
	2 x HBs Ag + HBsAg conf + HBs As + 2 x HBc As + HBe Ag + HBe As	1	-
10 testen	2 x HBs Ag + 2 x HBs As + 2 x HBc As + 2 x HBe Ag + 2 x HBe As	1	1
Totaal		135	135

6.1.1.3. Gebruikte reagentia

Tabellen 6.1.2. tot en met 6.1.8. geven in aantal weer welke reagentia door de deelnemers gebruikt werden voor de verschillende parameters. Niet alle laboratoria bepaalden alle parameters.

Tabel 6.1.2. Reagentia gebruikt voor de bepaling van HBs Ag.

Fabrikant	Reagens	IS/16642	IS/16686
Abbott	Architect HBsAg Qualitative II	15	15
	Alinity i HBs Ag Qualitative II	20	20
	Alinity i HBs Ag (quantitative)	2	2
	Alinity s HBs Ag Reagent Kit	1	1
Beckman (verdelers Analis)	Unicel DxI HBsAg V3	3	3
	Access HBsAg	1	1
bioMérieux	VIDAS HBs Ag Ultra	7	3
Diasorin	LIAISON XL HBsAg Quant	8	8
	LIAISON HBsAg	1	1
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products HBsAg	6	5
	Vitros Immunodiagnostic Products HBsAg ES	2	2
Roche	Cobas HBsAg II	29	29
	Cobas HBsAg	4	4
	Elecsys HBsAg II	23	22
	Elecsys HBsAg	2	3
	Modular HBsAg II	1	1
Siemens	ADVIA Centaur HBsAg II	2	2
	Atellica HBsAg II	16	16
Totaal		143	138

Tabel 6.1.3. Reagentia gebruikt voor de bepaling van HBs Ag confirmatie.

Fabrikant	Reagens	IS/16642
Abbott	Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory	1
	Alinity s HBs Ag confirmatory Reagent Kit	1
bioMérieux	VIDAS HBs Ag Ultra confirmation	2
Diasorin	LIAISON HBsAg Confirmatory Test	1
Roche	Elecsys HBsAg Confirmatory	1
	Cobas HBsAg Confirmatory	1
Totaal		7

Tabel 6.1.4. Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-HBs As.

Fabrikant	Reagens	IS/16642	IS/16686
Abbott	Architect anti-HBs	16	16
	Alinity i Anti-HBs	22	22
Beckman (verdelers Analis)	Unicel Dxl HBsAb	3	3
	Access HBsAb	1	1
bioMérieux	VIDAS Anti-HBs Total II	2	2
Diasorin	LIAISON anti-HBs II	3	3
	LIAISON anti-HBs	2	2
	LIAISON anti-HBs PLUS	1	1
	Murex Anti-HBs	3	3
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBs	7	6
Roche	Cobas anti-HBs	26	25
	Cobas anti-HBs II	1	1
	Elecsys anti-HBs II	32	32
Siemens	ADVIA Centaur anti-HBs 2	3	3
	Atellica anti-HBs 2	14	15
Totaal		136	135

Tabel 6.1.5. Reagentia gebruikt voor de bepaling van totale anti-HBc As.

Fabrikant	Reagens	IS/16642	IS/16686
Abbott	Architect anti-HBc II	16	16
	Alinity i Anti-HBc II	20	20
	Alinity s anti-HBc Reagent Kit	1	1
Beckman (verdelers Analis)	Unicel Dxl HBcAb	3	3
	Access HBcAb	1	1
bioMérieux	VIDAS anti-HBc Total II	5	3
Diasorin	LIAISON anti-HBc	8	8
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBc	8	7
Roche	Cobas anti-HBc	24	22
	Cobas anti-HBc II	4	6
	Elecsys anti-HBc II	21	21
	Elecsys anti-HBc	6	6
	Modular anti-HBc	2	2
Siemens	ADVIA Centaur HBc Total	3	3
	Atellica HBc Total	15	15
Totaal		137	134

Tabel 6.1.6. Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-HBc IgM.

Fabrikant	Reagens	IS/16642	IS/16686
Abbott	Alinity i Anti-HBc-IgM	1	-
bioMérieux	VIDAS HBc IgM II	1	1
Roche	Cobas anti-HBc IgM	1	1
Totaal		3	2

Tabel 6.1.7. Reagentia gebruikt voor de bepaling van HBe Ag.

Fabrikant	Reagens	IS/16642	IS/16686
Abbott	Architect HBeAg	8	7
	Alinity i HBe Ag	8	8
	Alinity i HBe Ag (quant)	1	1
bioMérieux	VIDAS HBe/Anti HBe	27	20
Diasorin	LIAISON HBeAg	7	7
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products HBeAg	1	1
Roche	Cobas HBeAg	14	14
	Elecsys HBeAg	9	9
Siemens	Atellica HBe Ag	10	10
Totaal		85	77

Tabel 6.1.8. Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-HBe As.

Fabrikant	Reagens	IS/16642	IS/16686
Abbott	Architect anti-HBe	8	7
	Alinity i Anti-HBe	8	9
bioMérieux	VIDAS HBe/Anti HBe	27	20
Diasorin	LIAISON anti-HBe	7	7
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBe	1	1
Roche	Cobas anti-HBe	14	14
	Elecsys anti-HBe	9	9
Siemens	ADVIA Centaur anti-HBe	1	-
	Atellica anti-HBe	10	10
Totaal		85	77

6.1.1.4. Resultaten

Eén laboratorium heeft beide stalen omgewisseld. Dit verklaart (een aantal van) de vals negatieve resultaten voor staal IS/16642 voor HBsAg, HBcAs en HBeAs en de vals positieve resultaten voor staal IS/16686 voor deze 3 parameters.

6.1.1.4.1. Staal IS/16642

De resultaten die de laboratoria geantwoord hebben voor de verschillende parameters voor staal IS/16642 zijn weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.9. Resultaten voor HBV voor staal IS/16642.

	HBs Ag ¹	HBsAg conf	HBs As ²	HBc tot As ³	HBc IgM	HBe Ag ⁴	HBe As ⁵
Positief	134	7	-	128	-	1	82
Borderline	-	-	1	-	-	-	-
Negatief	1	-	133	3	3	83	2
Totaal	135	7	134	131	3	84	84

¹ De laboratoria die de bepaling uitvoerden met 2 methoden, bekwamen voor beide een positief resultaat.

² De laboratoria die de bepaling uitvoerden met 2 methoden, bekwamen voor beide een negatief resultaat.

³ De laboratoria die de bepaling uitvoerden met 2 methoden, bekwamen voor beide een positief resultaat.

⁴ Het laboratorium dat de bepaling uitvoerde met 2 methoden, bekwam voor beide een negatief resultaat.

⁵ Het laboratorium dat de bepaling uitvoerde met 2 methoden, bekwam voor beide een positief resultaat.

Het negatieve resultaat voor HBsAg werd geantwoord door het hoger vermeldde laboratorium dat beide stalen omwisselde.

Het borderline resultaat voor de HBsAs werd bekomen met de kit Alinity i Anti-HBs. De overige 21 gebruikers van deze kit bekwamen een negatief resultaat. Wellicht betreft het een verkeerd aanvinken van de interpretatie in de aflopende lijst: het kwantitatieve resultaat (3.32 IU/mL) ligt immers binnen de range van resultaten van de andere gebruikers.

Naast het hoger vermeldde laboratorium dat beide stalen omwisselde werden de andere negatieve resultaten voor HBcAs bekomen met de kits LIAISON Anti-HBc (overige 7 gebruikers: positief resultaat) en Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBc (overige 7 gebruikers: positief resultaat). Ook hier betreft het in beide gevallen wellicht een verkeerd aanvinken van de interpretatie in de aflopende lijst: de kwantitatieve resultaten (indexen van respectievelijk <0.1 en 0.01) liggen immers in beide gevallen binnen de range van resultaten van de andere gebruikers.

Het positieve resultaat voor de HBeAg werd bekomen met de kit Cobas HBeAg. De overige 13 gebruikers van deze kit bekwamen een negatief resultaat. Wellicht betreft het een verkeerd aanvinken van de interpretatie in de aflopende lijst: het kwantitatieve resultaat (index 0.09) ligt immers binnen de range van resultaten van de andere gebruikers.

Naast het hoger vermeldde laboratorium dat beide stalen omwisselde werd het andere negatieve resultaat voor HBeAs bekomen met de kit Atellica anti-HBe (overige 9 gebruikers: positief resultaat). Ook hier betreft het wellicht een verkeerd aanvinken van de interpretatie in de aflopende lijst: het kwantitatieve resultaat (index >4.50) ligt immers in binnen de range van resultaten van de andere gebruikers.

De laboratoria die het verkeerde vakje aanvinken voor de verschillende parameters betreffen allemaal verschillende laboratoria.

Voor de kits met een voldoende aantal gebruikers (N ≥6) van de parameters waar een beoordeling van het kwantitatief resultaat relevant is, hebben we, voor zover de laboratoria dit kwantitatief resultaat geantwoord hebben, de mediaan, minimum en maximum berekend. Deze resultaten worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.10. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor HBsAg voor staal IS/16642.

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off
Architect HBsAg Qualitative (index s/co) ¹	14	465	335	526	≥ 1.0
Alinity i HBs Ag Qualitative II (index s/co)	20	399	309	1714	≥ 1.0
VIDAS HBs Ag Ultra (test value)	7	12.56	7.86	19.00	≥ 1.0
LIAISON XL HBsAg Quant (IU/mL)	8	6.5	5.2	8.9	≥ 0.05
Vitros Immunodiagnostic Products HBsAg (index s/co)	6	390	364	423	≥ 1.0
Cobas HBsAg II (index s/co) ²	28	292	210	328	≥ 1.0
Elecsys HbsAg II (index s/co)	28	294	202	345	≥ 1.0
Atellica HBs Ag II (index s/co) ³	11	913	700	990	≥ 1.0

¹ Het laboratorium dat beide stalen verwisselde antwoordde en index van 0.19

² Tevens antwoordde één laboratorium het resultaat van 12.20 IU/mL.

³ Tevens antwoordden 5 laboratoria een index >1000.

Tabel 6.1.11. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor totale anti HBc As voor IS/16642.

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off
Architect anti-HBc II (index s/co) ¹	15	9.15	7.07	10.50	≥ 1.0
Alinity i Anti-HBc II (index s/co)	20	7.79	4.47	8.49	≥ 1.0
Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBc (index s/co) ²	6	0.02	0.01	0.06	Stalen met een s/co ≤ 0.9 worden als "reactief" beschouwd
Cobas anti-HBc (index s/co) ³	22	0.010	0.007	0.090	Stalen met een s/co ≤ 0.9 worden als "reactief" beschouwd
Elecsys anti-HBc (index s/co) ⁴	5	0.009	0.009	0.011	Stalen met een s/co ≤ 0.9 worden als "reactief" beschouwd
Elecsys anti-HBc II (index s/co) ⁵	20	0.009	0.007	0.011	Stalen met een s/co ≤ 0.9 worden als "reactief" beschouwd

¹ Het laboratorium dat beide stalen verwisselde antwoordde en index van 0.64

² Tevens antwoordden 2 laboratoria een resultaat s/co <1. Het abo dat "negatief" antwoordde vermeldde een index van 0.01.

³ Tevens antwoordde één laboratorium een resultaat s/co van 125 en gaf één laboratorium geen kwantitatief resultaat.

⁴ Tevens antwoordde één laboratorium een resultaat s/co van 0.

⁵ Tevens antwoordde één laboratorium een resultaat s/co <0.8.

We vermelden ook dat:

- Voor LIAISON Anti-HBc 7 laboratoria een index <0.1 antwoordden en één laboratorium een index <0.90. Het abo dat "negatief" antwoordde vermeldde een index <1.
- Voor Atellica HBc Total 14 laboratoria een index >8 antwoordden en één laboratorium een index >10

Tabel 6.1.12. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor HBe As voor staal IS/16642.

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off
Architect anti-HBe (index s/co) ¹	7	0.03	0.02	0.05	Stalen met een s/co ≤ 1.0 worden als "reactief" beschouwd
Alinity i Anti-HBe (index s/co)	8	0.03	0.01	0.04	Stalen met een s/co ≤ 1.0 worden als "reactief" beschouwd
VIDAS HBe/anti-HBe (test vale) ²	18	0.01	0.01	0.02	Stalen met een test vale <1.0 worden als "positief" beschouwd
Cobas anti-HBe (index s/co) ³	11	0.002	0.002	0.030	Stalen met een s/co ≤ 1.0 worden als "reactief" beschouwd
Elecsys anti-HBe (index s/co) ⁴	7	0.002	0.002	0.020	Stalen met een s/co ≤ 1.0 worden als "reactief" beschouwd

¹ Het laboratorium dat beide stalen verwisselde antwoordde en index van 2.1

² Tevens antwoordden zes laboratoria een resultaat s/co van 0, één laboratorium <0.4 en twee laboratoria gaven geen kwantitatief resultaat weer.

³ Tevens antwoordden twee laboratoria een resultaat s/co van 0 en één gaf geen kwantitatief resultaat weer.

⁴ Tevens antwoordden twee laboratoria een resultaat s/co van 0.

We vermelden ook dat:

- Voor LIAISON Anti-HBe 5 laboratoria een index <0.1 antwoordden en twee laboratoria een index van 0.1
- Voor Atellica anti-HBe 4 laboratoria en index >3.5 antwoordden, 5 laboratoria een index >4.5 en één laboratorium een index van 5

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

- HBsAg en HBsAg confirmation (wel 2^e HBS Ag, HBsAs, HBcAs, HBeAg, HBeAs) 1 labo
- HBcAs (wel HBS Ag, HBsAg, 2eHBcAs, HBeAg, HBeAs) 1 labo
- HBeAg en HBeAs (wel HBS Ag, HBsAs HBsAs) 3 labo's
- HBeAs (wel HBS Ag, HBsAs, HBcAs, HBeAg) 1 labo
- HBsAs (wel HBS Ag, HBcAs, HBeAg, HBeAs) 1 labo

6.1.1.4.2. Staal IS/16686

De resultaten die de laboratoria geantwoord hebben voor de verschillende parameters voor staal IS/16686 zijn weergegeven in volgende tabel.

Tabel 6.1.13. Resultaten voor HBV voor staal IS/16686.

	HBs Ag ¹	HBs As ²	HBc tot As ³	HBc IgM	HBe Ag ⁴	HBe As ⁵
Positief	1	-	36	-	-	1
Borderline	-	-	3	-	-	-
Negatief	134	134	92	2	76	75
Totaal	135	134	131	2	76	76

¹ De laboratoria die het HBsAg met twee methoden bepaalden, bekwamen met beiden een negatief resultaat.

² Het laboratorium dat de HBsAs met twee methoden bepaalde, bekwam met beiden een negatief resultaat.

³ De laboratoria die de HBcAs met twee methoden bepaalden, bekwamen met beiden ofwel een negatief ofwel een positief resultaat.

⁴ Het laboratorium dat Het HBeAg met twee methoden bepaalde, bekwam met beiden een negatief resultaat.

⁵ Het laboratorium dat de HBeAs met twee methoden bepaalde, bekwam met beiden een negatief resultaat.

De positieve resultaten voor HBsAg en HBeAs werden geantwoord door het hoger vermeldde laboratorium dat beide stalen omwisselde.

We hebben de resultaten van de HBcAs geanalyseerd per kit. Deze analyse wordt in onderstaande tabel weergegeven.

Tabel 6.1.14. Resultaten voor HBcAs voor staal IS/16686 in functie van de gebruikte kit.

Kit	N labo's	Positief	Borderline	Negatief
Architect anti-HBc II	16	1 ¹	+	15
Alinity i Anti-HBc II	20	-	-	20
Alinity s anti-HBc Reagent Kit	1	-	-	1
Unicel DxI HBcAb	3	2	1	-
Access HBcAb	1	1	-	-
VIDAS anti-HBc Total II	3	3	-	-
LIAISON anti-HBc	8	6	1	1
Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBc	7	7	-	-
Cobas anti-HBc	22	-	-	22
Cobas anti-HBc II	6	-	-	6
Elecsys anti-HBc II	21	-	-	21
Elecsys anti-HBc	6	-	-	6
Modular anti-HBc	2	-	-	2
ADVIA Centaur HBc Total	3	3	-	-
Atellica HBc Total	15	14	1	-

¹ Dit betreft het laboratorium dat beide stalen omwisselde.

De verschillende firma's die (vals) positieve resultaten bekwamen hebben het staal onderzocht. U vindt hieronder hun conclusies.

Diasorin

As conclusion we can therefore exclude a drift in performance for the assay LIAISON® anti-HBc, therefore the reported issue is likely related to the specific sample which shows a reactivity around our cut off value.

bioMérieux

We did not reproduced the issue (namely false positive results) when testing internal samples on the retain kit of VIDAS HBcT II lot 1009598670/230811-0 (customers' lot) during a previous investigation conducted in January 2023.

The root cause observed using VIDAS HBcT II reagent ref.30314 can be explained by the presence of interference such as the ones highlighted during the investigation.

It is written in VIDAS HBcT II package insert at section LIMITATIONS OF THE METHOD

“ Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration

the patient's clinical history and the results of any other tests performed". According to the information mentioned above, there is no reconsideration of the performance of VIDAS HBcT II ref.30314 lot 1009598670/230811-0.

Ortho Diagnostics

Multiple customers have contacted Global Services Organization at QuidelOrtho™ (previously known as Technical Solutions Center) to report discordant, reactive VITROS® AntiHBc (aHBc) results when testing a Sciensano external quality control (QC) fluid (reference IS/16686) using the VITROS® aHBc reagent on VITROS® XT 7600 Immunodiagnostic Systems. The issue has been documented under call reference numbers 32211979, 32212094 and 32212159. The determination was made that the most likely assignable cause of the events is due to an unknown sample related interferent in the Sciensano External QC Sample that affects the VITROS® aHBc method. This issue is isolated to the Sciensano External QC sample. The customers did not indicate that patient or donor samples were affected. There was no allegation of patient/donor harm. The investigation concluded that patient and donor results were not and could not be affected if the event were to reoccur and based on quality control data, there is no indication that the VITROS® XT7600 Integrated Systems or VITROS® aHBc reagent malfunctioned.

Analisis

Unfortunately, the exact cause for this issue could not be determined. However, no malfunction and no non-conformance could be detected in relation with this issue you reported. Sensitivity and specificity for the HBc Ab assay are 99.3% and 99.5% respectively. Despite the fact that such figures are the proof of a high-performance level, they also indicate that a very low rate of discordant results may be observed. Additionally, the Access HBc Ab results should be interpreted in light of the total clinical presentation of the patient, including: symptoms, clinical history, data from additional tests, and other appropriate information.

Siemens

Thank you for contacting us about the reactive results reported by Siemens Healthineers ADVIA Centaur and Atellica Solution customers using the Anti-Hepatitis B core Total (HBcT) assay for sample IS/16686 from your hepatitis B and C 2023/02 External Quality Assurance (EQA) scheme.

We appreciate you providing us with sample for investigation and the opportunity to provide feedback about these results. **We were able to duplicate the reactive HBcT results seen by our customers.**

The ADVIA Centaur and Atellica Solution HBcT immunoassay is a two-wash antigen bridging immunoassay in which a recombinant Hepatitis B core antigen (rHBcAg), coupled to a magnetic latex particle, is bridged, in the presence of anti-HBc IgG and IgM antibodies, to a different rHBcAg, coupled to acridinium ester. A direct relationship exists between the amount of antibody present in the sample and the RLU (Relative Light Unit) signal.

To determine if the positive HBcT result with sample IS/16686 was due to specific antigen interactions, **unlabeled rHBcAg was spiked, as a pretreatment**, into aliquots of sample IS/16686, and allowed to incubate prior to being assayed with our HBcT immunoassay. A specific interaction with a rHBcAg would bind antibody in the sample thus neutralizing the response when assayed and reducing the observed signal from the test method. This was first verified by spiking rHBcAg into a positive HBcT control which showed the expected reduction in the observed signal when tested with the HBcT assay. When an aliquot of sample IS/16686 was spiked with the first rHBcAg, the sample was effectively neutralized, recovering less than the assay cutoff of 0.50 Index. Similarly, when an aliquot of sample IS/16686 was spiked with the second rHBcAg, the sample was effectively neutralized, recovering less than the assay cutoff of 0.50 Index. An aliquot of sample IS/16686 was also spiked with a volume of buffer equal to that used in the antigen spiking experiments and the sample was not neutralized showing that the reduction of the observed signal was not due to a dilution of the sample.

The results of this study indicate the reactive HBcT result observed with sample IS/16686 is considered to be reactive based on a specific interaction of the sample toward both recombinant HBc antigens. This suggests that there are anti-HBc antibodies in sample IS/16686.

Hepatitis B core antigen (HBcAg), found in liver cells, does not circulate in the bloodstream. However, IgM and IgG antibodies to HBcAg can be detected serologically in HBV-infected individuals. Anti HBc IgM is detectable first and remains detectable for approximately 6 months. Shortly after the IgM response, anti HBc IgG appears and can remain detectable indefinitely. The presence of anti HBc IgM is characteristic of acute infection, while the presence of anti HBc IgG is characteristic of chronic or recovered stages of HBV infection. Anti HBc Total assays detect both IgM and IgG anti HBc responses. Most often, levels of anti HBc will coincide with detectable levels of other HBV markers. Rarely, anti HBc may be the only detectable HBV marker. This may occur during the brief period when hepatitis B surface antigen (HBsAg) has been cleared from the bloodstream and before antibodies to hepatitis B surface antigen (anti HBs) become detectable. For

this reason, the use of anti HBc Total assays to detect acute infection is not recommended. Anti HBc Total assays should be used in conjunction with other marker assays to assess current or past exposure to HBV.1,2,3,4

1. Gitlin N. Hepatitis B: diagnosis, prevention, and treatment. Clin Chem. 1997;43(8, pt 2):1500–1506.
2. Mahoney FJ. Update on diagnosis, management, and prevention of hepatitis B virus infection. Clin Microbiol Rev. 1999;12(2):351–366.
3. Vivek R. Treatment of hepatitis B. Clin Cornerstone. 2001;3(6):24–36.
4. Koff RS. Hepatitis B today: clinical diagnostic overview. Pediatr Infect Dis J. 1993;12(5):428–432.

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

- HBcIgM, HBeAg, HBeAs (wel HBsAg, HBsAs en HBcAs)	1 labo
- HBsAg, HBeAg, HBeAs, (wel 2 ^e HBsAg, HBsAs en HBcAs)	1 labo
- HBcAs, HBeAg, HBeAs (wel HBsAg, HBsAs)	1 labo
- HBeAg, HBeAs (wel HBsAg, HBsAs en HBcAs)	32 labo's
- HBeAg (wel HBsAg, HBsAs, HBcAs en HBeAs)	3 labo's
- HBeAs (wel HBsAg, HBsAs, HBcAs en HBeAg)	3 labo's
- HBsAs (wel HBsAg, HBcAs HBeAg en HBeAs)	1 labo
- HBeAg, HBeAs (wel HBsAg en HBsAs)	1 labo
- HBsAs (wel HBsAs en HBcAs)	1 labo
- HBsAs, HBcAs (wel HBsAg)	1 labo
- HBsAg HBsAs, HBcAs (enige 3 testen)	1 labo

6.1.2. HEPATITIS C

6.1.2.1. De stalen

Zoals reeds vermeld in de inleiding dienden de HBV en HCV serologie op dezelfde stalen uitgevoerd te worden.

De verwachte resultaten voor HCV waren:

IS/16642:
HCV: antistoffen negatief

IS/16686:
HCV: antistoffen positief

6.1.2.2. De deelnemers

135 Belgische en Luxemburgse klinische laboratoria hebben dus de hepatitis C serologie uitgevoerd.

Een aantal laboratoria voerde meer dan 1 test uit per staal. Onderstaande tabel geeft het aantal uitgevoerde testen per staal weer.

Tabel 6.2.1. Aantal uitgevoerde bepalingen van totale anti-HCV antistoffen per staal

Staal	1 test	2 testen	Totaal
S/16642	131	4	135
IS/16686	120	15	135

Eén laboratorium voerde op beide stalen enkel een blottest uit. Drie laboratoria voerden een blottest uit naast de ELISA test voor staal IS/16686.

Er werden dus 139 testen uitgevoerd op staal IS/16642 en 150 testen op staal IS/16686.

6.1.2.3. Gebruikte reagentia

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

Tabel 6.2.2. Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-HCV antistoffen.

Fabrikant	Reagens	IS/16642	IS/16686
Abbott	Architect HCV	16	16
	Alinity i Anti-HCV	20	21
	Alinity s anti-HCV Reagent Kit	1	1
bioMérieux	Vidas anti-HCV	3	9
BioRad	Access HCV Ab Plus op toestel Unicel Dxl 800 ¹	4	4
	Monolisa HCV Ag-Ab ULTRA Assay	-	1
Diasorin	Liaison XL Murex HCV Ab	6	6
Fujirebio	Innolia HCV score ²	1	3
Mikrogen	recomLine HCV IgG	-	1
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HCV	7	7
Roche	Cobas e anti-HCV II	31	31
	Cobas e anti-HCV	4	4
	Elecsys anti-HCV II	24	24
	Elecsys anti-HCV	1	1
	Modular anti-HCV II	1	1
	Modular anti-HCV	1	1
Siemens	ADVIA Centaur HCV	3	3
	Atellica HCV	16	16
Totaal		139	150

¹ Dit toestel wordt door de firma Analis Beckman gecommmercialiseerd.

6.1.2.4. Resultaten

6.1.2.4.1. Staal IS/16642

133 laboratoria bekwamen een negatief resultaat (laboratoria die 2 methoden gebruikten, bekwamen met beiden een negatief resultaat); 2 laboratoria bekwamen een positief resultaat. Eén van deze beide laboratoria heeft de 2 stalen omgewisseld (dit is het laboratorium dat reeds onder HBV vermeld werd).

Twee laboratoria die twee methoden gebruikten, zouden slechts één van beide methoden in routine uitvoeren. Eén laboratorium dat slechts 1 test uitvoerde, verklaarde deze in routine niet uit te voeren.

6.1.2.4.2. Staal IS/16686

132 laboratoria bekwamen een positief resultaat (laboratoria die 2 methoden gebruikten, bekwamen met beiden een positief resultaat). Drie laboratoria bekwamen een negatief resultaat. Eén van deze drie laboratoria heeft de 2 stalen omgewisseld (cfr. supra).

Voor de kits met een voldoende aantal gebruikers ($N \geq 6$) hebben we mediaan, minimum en maximum berekend. Deze resultaten worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.2.3. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor HCV As voor staal IS/16686.

Fabrikant	Reagens	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off
Abbott	Alinity i Anti-HCV ¹ (index s/so)	21	17.91	15.96	19.43	≥ 1.0
	Architect HCV ² (index s/so)	15	16.95	13.72	20.21	≥ 1.0
bioMérieux	Vidas anti-HCV (index s/so)	9	30.66	23.50	39.08	≥ 1.0
Diasorin	Liaison XL Murex HCV Ab (index s/so)	6	10.5	9.5	11	≥ 1.0
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HCV ³ (index s/so)	6	26.6	23.5	32.5	≥ 1.0
Roche	Cobas e anti-HCV II ⁴ (index s/so)	30	45.00	33.02	65.82	≥ 1.0
	Elecsys anti-HCV II (index s/so)	24	40.40	31.39	64.40	≥ 1.0

¹ Het laboratorium dat de interpretatie "negatief" gaf voor deze kit vermeldde een index van 16.72.

² Het laboratorium dat de interpretatie "negatief" gaf voor deze kit is het laboratorium dat de beide stalen omwisselde en een index van 0.11 vermeldde.

³ Daarenboven vermeldde het laboratorium dat de interpretatie "negatief" gaf voor deze kit een index < 0.1 .

⁴ Daarenboven vermeldde één laboratorium geen kwantitatief resultaat.

Tevens vermeldden we voor de kit Atellica HCV:

- 14 laboratoria een index > 11
- 1 laboratorium een index van 12
- 1 laboratorium een index > 12

Eén laboratorium dat twee methoden gebruikt, zou slechts één van beide in routine uitvoeren. Eén ander laboratorium zou de test evenmin in routine uitvoeren.

6.1.3. INTERPRETATIES VOOR STALEN IS/16642 EN IS/16686

Ter gelegenheid van deze enquête werd aan de laboratoria gevraagd om voor elk van beide stalen HBV en HCV samen te interpreteren.

De verwachte interpretaties waren:

IS/16642: "Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie".

IS/16686: "Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken".

Het laboratorium dat enkel de HBV-serologie uitvoerde gaf volgende interpretaties:

IS/16642: "Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus. Een bevestiging is gewenst door bepaling van HBcAs, HBeAg, HBeAs en virale lading HBV".

IS/16686: 'Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus Een bevestiging is gewenst door bepaling van HBcAs, HBeAg, HBeAs om zich te verzekeren dat de hepatitisserologie in zijn geheel negatief is gezien plasmadonor".

Het laboratorium dat enkel de HCV-serologie uitvoerde gaf volgende interpretaties:

IS/16642: "Geen evidentie voor hepatitis C virus infectie".

IS/16686: "Serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken. Een bevestiging is gewenst door bepaling van HCV PCR".

Eén laboratorium gaf geen interpretatie voor staal IS/16642 en 3 laboratoria voor staal IS/16686.

6.1.3.1. Staal S/16642

6.1.3.1.1. Eigenlijke interpretatie

De meerderheid van de laboratoria koos voor de interpretatie “Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie”. Enkele laboratoria verkozen een andere interpretatie.

Een overzicht van de interpretaties wordt in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 6.3.1. Interpretatie voor staal IS/16642.

Interpretatie	N labo's
Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie	131
Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken. ¹	1
Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken. ²	1
Totaal	133

¹ Analytische resultaten van dit labo: HBs Ag, HBc As, HBeAs en HCV-As positief; HBs As en HBeAg: negatief.

² Analytische resultaten van dit labo: HBs Ag, HBs As, HBeAg, HBc As en HBeAs negatief; HCV-As: positief (dit is het laboratorium dat beide stalen omwisselde).

6.1.3.1.2. Opmerkingen bij de interpretaties

121 laboratoria gaven bij het verwachte antwoord “Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie” een opmerking. Onderstaande tabel geeft deze opmerkingen weer.

Tabel 6.3.2. Opmerkingen voor staal IS/16642, gegeven door de laboratoria die de interpretatie “Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie” gaven.

Opmerking	N labo's
Een bevestiging is gewenst door complementaire test(en)	59
Een bevestiging is gewenst door een nieuwe afname	9
Een bevestiging is gewenst door een nieuwe afname en PCR HBV	2
Een bevestiging is niet nodig	51
Totaal	121

Onderstaande tabel geeft weer welke complementaire testen de laboratoria voorstelden.

Tabel 6.3.3. Complementaire testen voorgesteld door de laboratoria die de interpretatie "Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie" voor staal IS/16642, gaven.

Test	N labo's
Moleculaire testen voor HBV	39
Moleculaire testen voor HBV + HBe Ag + HBe As	9
Moleculaire testen voor HBV + follow-up van de serologie	2
Moleculaire testen voor HBV + HBsAg confirmatie	1
HBC IgM + HBeAg + HBeAs	1
HBe Ag + HBe As	2
HBsAg confirmatie	4
Follow-up van het verschijnen van de HBsAs en het verdwijnen van het HBeAg	1
Totaal	59

6.1.3.2. Staal IS/16686

6.1.3.2.1. Eigenlijke interpretatie

De meerderheid van de laboratoria koos voor de interpretatie “Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken.”

De meerderheid van de laboratoria die (vals) positieve HBCAs bekwamen, verkozen een andere interpretatie.

Tabel 6.3.4. Interpretatie voor staal S/16686.

Interpretatie	N labo's
Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken.	104
Immuniteit ten gevolge van een natuurlijke infectie met hepatitis B; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken. ¹	8
Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken. ²	6
Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie ³	2
Mogelijk oude natuurlijke infectie door het hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve infectie door HCV (ofwel met een contact met HCV in het verleden. Bijkomende testen zijn nodig om het onderscheid tussen beide te maken. ⁴	1
Geïsoleerde hepatitis B core AL positiviteit (zonder surface antigen noch surface antistoffen). Staal zou doorgestuurd worden voor eAL en eAG te bepalen. “Core only” serologie (HbcAL) mogelijk bij - vensterperiode van acute infectie (sAg en/of eAG reeds negatieveerd, bijhorende sAL/eAL antilichamen nog niet aantoonbaar) - jaren na herstel van HBV infectie (sAL / eAL ondetecteerbaar laag geworden) - chronische occulte HBV infectie (sAg ondetecteerbaar laag geworden, low-level HBV replicatie) - HBV sAg escape mutant (mutatie van het sAg ondergaan, niet meer opspoorbaar via routinetest) - zeldzaam ten gevolge van vals positieve HbcAL-test. Het onderscheid kan gemaakt worden door een HBV DNA bepaling, maar deze test wordt niet terugbetaald in deze omstandigheden. Graag verschaffen van controlestaal met klinische gegevens. Correleren met historiek en leverparameters. + serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken. ⁵	1
Actieve HCV infectie of contact in het verleden (PCR aangeraden om het onderscheid te maken). HBV : beeld compatibel met een interferentie door aspecifieke antistoffen (anti-HCV antistoffen), herstel van een recente HBV-infectie, een antécédent van HBV in een ver verleden met verdwijnen van de anti-HBS As of een chronische drager van HBV in lage concentratie ⁶	1
Hepatitis B serologie, DD: vals positief resultaat (aspecifieke reactie), occulte infectie zeer oude doorgemaakte infectie, infectie met mutant, co-infectie hepatitis C, window-periode acute fase. Hepatitis C-serologie: compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken. ⁷	1
Vermoedelijk niet specifieke anti-HBc As, te controleren. HCV positief. ⁸	1
Vermoedelijk interferentie door aspecifieke antistoffen, een antécédent van HBV in een ver verleden. of zeldzaam een chronische drager van HBV met niet detecteerbaar HBs Ag. ⁹	1
Serologisch profiel suggestief voor oude een infectie met het hepatitis B virus of vals positief: compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken. ¹⁰	1
Serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken. 'Core-only' HBV? Verschillende mogelijkheden: 1. Vals-positieve anti-HBc test? 2. Na jarenlang herstel van HBV-infectie (geklaarde infectie, dus geen chronische HBV): anti-HBs en anti-HBe titers dalen tot ondetecteerbaar, waardoor enkel anti-HBc nog positief is. 3. Window periode tussen negativeren van HBsAg en/of HBeAg enerzijds en positiveren van anti-HBs en/of anti-HBe anderzijds. 4. Chronische HBV infectie met laaggradige replicatie: HBsAg is ondetecteerbaar, HBV DNA is zwak positief 5. Mutant virus met een andere vorm van HBsAg, dat niet kan worden opgepikt in de analyse (maar dus wel aanwezig is). ¹¹	1
Serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Geïsoleerde Hepatitis B core antistoffen, mogelijke oorzaken hiervan zijn; - doorgemaakte (genezen) HBV infectie (HBsAb ondertussen onder de detectiegrens gezakt). - vals positief resultaat (kruisreactie met HCV AS mogelijk) - windowfase na recente infectie (HBsAg niet meer en HBsAb nog niet aantoonbaar). Minder waarschijnlijk indien normale transaminase. - occulte HBV infectie Graag controle HBsAg, HBsAb, HbcAb na 1 maand indien geen sprake van HBV infectie in verleden bij anamnese. Indien persisterende geïsoleerde anti-HBc, analyse eventueel aanvullen met een PCR Hepatitis B of HBV vaccinatie challenge: bij doorgemaakte HBV infectie is een anamnestiche respons te verwachten, met vaststelling van protectieve anti-HBs levels 1 maand na 1-malige toediening van het vaccin. ¹²	1

Serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Verschillende hypothesen kunnen de aanwezigheid van de anti-HBc verklaren (interferentie, passief post transfusie, negatief window Hbs as/ag) ¹³	1
Als de HBcAs bevestigd worden als positief: "Immuniteit ten gevolge van een natuurlijke infectie met het hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken". Indien de HBcAs daarentegen niet bevestigd worden (dus te beschouwen als vals positief) interpretatie "Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken" ¹⁴	1
Totaal	131

¹ Analytische resultaten van deze labo's:

4 labo's: HBs Ag, HBs As, HBeAg en HBeAs negatief; HBc As en HCV-As: positief.

4 labo's: HBs Ag en HBs As negatief; HBc As en HCV-As: positief.

² Analytische resultaten van deze labo's:

3 labo's: HBs Ag, HBs As, HBeAg en HBeAs negatief; HBc As en HCV-As: positief.

3 labo's: HBs Ag en HBs As negatief; HBc As en HCV-As: positief.

³ Analytische resultaten van deze labo's:

1 labo: HBs As, HBeAg en HCV-As negatief; HBs Ag, HBc As, HBeAs: positief. (dit is het labo dat beide stalen omgewisseld heeft)

1 labo: HBs Ag, HBs As, HBc As, HBeAg en HBeAs negatief; HCV-As: positief. (mogelijk heeft dit labo het verkeerde vakje aangevinkt bij de interpretatie)

⁴ Analytische resultaten van dit labo: HBs Ag, HBs As, HBeAg en HBeAs negatief; HBc As en HCV-As: positief.

⁵ Analytische resultaten van dit labo: HBs Ag en HBs As negatief; HBc As en HCV-As: positief.

⁶ Analytische resultaten van dit labo: HBs Ag, HBs As, HBeAg en HBeAs negatief; HBc As en HCV-As: positief.

⁷ Analytische resultaten van dit labo: HBs Ag en HBs As negatief; HBc As en HCV-As: positief.

⁸ Analytische resultaten van dit labo: HBs Ag en HBs As negatief; HBc As en HCV-As: positief.

⁹ Analytische resultaten van dit labo: HBs Ag, HBs As, HBeAg en HBeAs negatief; HBc As en HCV-As: positief.

¹⁰ Analytische resultaten van dit labo: HBs Ag, HBs As, HBeAg en HBeAs negatief; HBc As borderline; HCV-As: positief.

¹¹ Analytische resultaten van dit labo: HBs Ag, HBs As, HBeAg en HBeAs negatief; HBc As en HCV-As: positief.

¹² Analytische resultaten van dit labo: HBs Ag en HBs As negatief; HBc As en HCV-As: positief.

¹³ Analytische resultaten van dit labo: HBs Ag, HBs As, HBeAg en HBeAs negatief; HBc As en HCV-As: positief.

¹⁴ Analytische resultaten van dit labo: HBs Ag en HBs As negatief; HBc As en HCV-As: positief.

Wat betreft de laboratoria die een (vals) positief resultaat bekwamen voor de HBcAs, stellen we vast dat:

- 11 laboratoria de verwachte interpretatie gaven
- 24 laboratoria een andere interpretatie gaven (zoals opgenomen in bovenstaande tabel)
- 2 laboratoria geen interpretatie gaven

Wat betreft de laboratoria die een (vals) borderline resultaat bekwamen voor de HBcAs, stellen we vast dat:

- 1 laboratorium de verwachte interpretatie gaf
- 2 laboratoria een andere interpretatie gaven (zoals opgenomen in bovenstaande tabel)

6.1.3.2.2. Opmerkingen bij de interpretaties

92 laboratoria gaven een opmerking bij het antwoord “Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus ; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken.

Tabel 6.3.5. Opmerkingen voor staal S/16686 gegeven door de laboratoria die de interpretatie “Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken” gaven.

Opmerking	N labo's
Een bevestiging is gewenst door complementaire test(en)	83
Een bevestiging is gewenst door een nieuwe afname	3
Geïsoleerd positieve HBcore As: mogelijk vals positief? Te controleren met een nieuwe bloedafname.	1
Een bevestiging is niet nodig	5
Totaal	92

Onderstaande tabel geeft weer welke complementaire testen de laboratoria voorstelden.

Tabel 6.3.6. Complementaire testen voorgesteld door de laboratoria die de interpretatie “Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken” voor staal IS/16686, gaven.

Test	N labo's
Moleculaire testen voor HCV	68
Blottesten voor HCV	2
Moleculaire testen en blottesten voor HCV	1
Controle HCV serologie	3
Controle HCV serologie en moleculaire testen voor HCV	5
Moleculaire testen voor HCV en controle HBV serologie (HBcAs)	3
Controle HCV serologie en moleculaire testen voor HCV en controle HBV serologie (HBcAs)	1
Totaal	83

6.1.4. COMMENTAAR OP DE ENQUÊTE HBV EN HCV

6.1.4.1. Staal IS/16642

Voor staal IS/16642 wijst het klinisch verhaal op een actieve (virale) hepatitis, en zijn er risicofactoren aanwezig voor zowel HCV als HBV. Het bekomen serologisch profiel wijst op een chronisch actieve AgHBe-negatieve HBV infectie.

Over het algemeen zijn de resultaten geruststellend. Op één laboratorium na (staalwissel) werd AgHBs adequaat opgepikt. De AgHBs waarden lagen in alle kits duidelijk boven cut-off van positiviteit, met mediaan-waarden die minimaal 100x hoger lagen (m.u.v. Vidas kit) voor de meest gebruikte reagentia.

Het is geruststellend dat 134/135 laboratoria AgHBs als positief hebben bevonden en alzo gerapporteerd. Er werd dus geen actieve HBV-infectie gemist bij screening. Bijkomend waren de 7 uitgevoerde confirmatietesten adequaat. Hierbij valt enerzijds het erg beperkt aantal uitgevoerde serologische confirmaties voor AgHBs op, en anderzijds valt in het algemeen op te merken dat de confirmatietest idealiter gebruik maakt van andere antigenen dan dezen gebruikt in de screeningstest. De vraag kan gesteld wat de meerwaarde is van een AgHBs-confirmatietest bij zulk overtuigend resultaat in de AgHBs-screeningstest.

Vervolgens zijn de bekomen resultaten voor de AgHBe-status naar wens: op één na (vermoedelijk o.w.v. administratief probleem) rapporteerden de laboratoria die AgHBe routinematig uitvoeren igv AgHBs-positiviteit deze parameter correct als negatief. En verder is nazicht van HBc-antistoffen zoals het hoort. In totaal werden er 3 onjuiste bepalingen doorgegeven (1 staalwissel en 2 logistieke fouten mogelijk te wijten aan onoplettendheid bij administratie).

Wat additioneel nog duidelijk wordt uit deze EKE, is het erg beperkt gebruik van IgM anti-HBc analyses (n=3 voor IS/16642). Op zich is anti-HBc IgM een goede merker: positiviteit indiceert

recente infectie met HBV (< 6 maanden). Bij AgHBs screening die positief blijkt, kan een gecombineerde positieve anti-HBc totale As met positieve IgM anti-HBc, een acute infectie doen besluiten. Terwijl een positief resultaat voor totale anti-HBc As, in combinatie met negatieve anti-HBc IgM, een chronische infectie doet vermoeden.

Wat de HCV-serologie betreft, had de meerderheid een correct negatief resultaat (133/135), één labo een vals-positief resultaat, en één labo een staalwissel.

De eigenlijke interpretaties waren alle 135 correct ifv de laboratoriumbevindingen. De opmerkingen mbt bijkomende testing hangt natuurlijk af van de uitgevoerde serologische testen intern, maar de clinicus zal bij deze bevindingen bij een nieuwe patiënt wel een viremiebepaling nodig achten dmv een HBV-DNA bepaling.

6.1.4.2. Staal IS/16686

Wat vooral opvalt bij dit 2^{de} serummonster, is de erg frequente detectie van (vals-positieve) anti-HBc (totale) antistoffen namelijk bij 36 deelnemers, waarnaast nog 3 laboratoria een borderline anti-HBc detecteerden. Velen deden hun best om hierbij een correcte interpretatie te typen met brede differentiaal diagnose in de commentaar vermeld.

In geval van een “anti-HBcore only” profiel mag er niet licht over gegaan worden, gezien het wel klinische consequenties kan hebben. In zulk geval zou een bijkomende anti-HBc-IgM bepaling die negatief blijkt reeds een acute HBV-infectie quasi kunnen uitsluiten. Opvolgserologie met PCR HBV is veiligste optie.

Er mag natuurlijk niet licht over een “anti-HBcore only” profiel gegaan worden, gezien het wel klinische consequenties kan hebben. In zulk geval is het een goede manier van werken om (zeker igv een zwak-positieve anti-HBcore waarde) een tweedelijns en onafhankelijke anti-HBc bepaling uit te voeren, en op die manier een non-specifieke kruisreactieve antistof na te gaan. Indien deze tweedelijns test eveneens positief/reactief blijkt, zou bijkomend een negatieve anti-HBc-IgM bepaling reeds een acute HBV-infectie quasi kunnen uitsluiten.

In nieuwe patiënten of immuungedepriëerde gastheren zou in deze setting een PCR HBV-DNA aangewezen zijn om een occulte HBV met zekerheid uit te sluiten, maar hier stuiten we op beperkingen in de terugbetaalde indicaties die allen gebaseerd zijn op AgHBs-positiviteit jammer genoeg. Opvolgserologie (al dan niet met PCR HBV) om de 6 à 12m kan interessant zijn in risicogroepen, tesamen met leverenzymes.

Antistofresponses tov elk van de HBV proteïnen worden gedetecteerd in humane sera volgend op HBV-infectie¹. Na resolutie van transiënte HBV infectie zullen anti-HBc antistoffen langer persisteren dan andere HBV merkers en daarom is anti-HBc de meest universele merker voor diagnostische en epidemiologische doeleinden. Het “anti-HBc only” serologisch profiel kan geassocieerd zijn met: (i) passieve transfer van anti-HBc; (ii) een recente primaire HBV infectie waarbij HBsAg reeds verdween en anti-HBs nog niet detecteerbaar is; (iii) een HBV infectie waarbij HBsAg niet detecteerbaar is tgv mutante stammen; (iv) suppressie van HBV replicatie tengevolge van interferentie met andere virussen, voornamelijk HCV en hepatitis delta virus (HDV) of een verminderde gastheer immuunrespons tgv HIV-infectie; (v) non-specifieke, kruisreactieve antistof; (vi) doorgemaakte infectie met verlies van detecteerbare anti-HBs; (vii) persistente HBV infectie waarin HBsAg niet detecteerbaar is omwille van een erg lage viremie, actueel geklasseerd als een occulte HBV infection^{2,3,4,5,6,7}.

In geval van een duidelijk positief HCV-antistofresultaat (zoals in dit serumstaal aanwezig) is een interferentie/kruisreactiviteit thv de anti-HBc test het meest waarschijnlijk in deze EKE.

De aangeschreven firma's reageerden in beperkte mate op de toegestuurde stalen. In geval van een respons werd verwezen naar een “onbekende interferent”.

Referenties

1. Manzini P, Giroto M, Borsotti R, et al. Italian blood donors with anti-HBc and occult hepatitis B virus infection. *Haematologica*. 2007;92:1663–70.
2. Raimondo G, Allain JP, Brunetto MR, et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2008;49:652–
3. Kleinman S, Kuhns M, Todd D, et al. Frequency of HBV DNA detection in US blood donors testing positive for the presence of anti-HBc: implications for transfusion transmission and donor screening. *Transfusion*. 2003;43:696–704.
4. Kuhns M, Bush M. New strategies for blood donors screening for hepatitis B virus: Nucleic acid testing versus immunoassay methods. *Mol Diag Ther*. 2006;10:77–91.
5. Marusawa H, Uemoto S, Hijikata M, et al. Latent hepatitis B virus infection in healthy individuals with antibodies to hepatitis B core antigen. *Hepatology*. 2000;31:488–95.

6. Weber B, Melchior W, Gehrke R, et al. Hepatitis B virus markers in anti-HBc only positive individuals. *J Med Virol.* 2001;64:312–9.
7. Gessoni G, Beggio S, Barin P, Favarato M, Galli C, Valverde S, Boscolo Nata M, Salvadego MM, Marchiori G. Significance of anti-HBc only in blood donors: a serological and virological study after hepatitis B vaccination. *Blood Transfus.* 2014 Jan; 12(Suppl 1): s63–s68

M. Reynders, AZ ST-Jan, Brugge

6.2. Legionella antigen

6.2.1. DE MONSTERS

Er werden 2 urinestalen (Ag/19884 en Ag/19908) rondgestuurd waarop de bepaling van het Legionella-antigen gevraagd werd. Staal Ag/19884 was negatief en staal Ag/19908 was positief. Staal Ag/19908 werd reeds verstuurd in de EKE 2015/1 onder staalnummer Ag/12973 en in de EKE 2010/2 onder staalnummer Ag/10118.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

Ag/19884: Een 78 jarige man, recent teruggekeerd van de Spaanse Costa del Sol, meldt zich aan bij de huisarts owv koorts en griepaal syndroom. Zuurstofsaturatie bedraagt 97%.

Ag/19908: Een 78 jarige man, resident in een woonzorgcentrum, meldt zich aan op spoed met een ernstige pneumonie. CRP bedraagt 298 mg/L.

6.2.2. DE DEELNEMERS

109 laboratoria hebben hun resultaten ingevuld: dit betrof 108 (op 110 ingeschreven laboratoria of 98.2%) klinische laboratoria en 1 firmalaboratorium. Dit laatste werd niet in de verwerking van de resultaten opgenomen. Het gebruikte de kit Legionella K-set van Coris Bioconcept met correcte resultaten voor beide stalen.

Op beide stalen voerden 107 laboratoria 1 test uit en 1 laboratorium 2 testen. In totaal werden er op elk van beide stalen dus 109 testen uitgevoerd.

6.2.3. GEBRUIKTE REAGENTIA

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

Tabel 6.2.1. Reagentia gebruikt voor de bepaling van het Legionella antigen.

Fabrikant	Reagens	Ag/19884	Ag/19908
Abbott	Binax Now Legionella Urinary Ag test	97	97
Aidian	Standard F Legionella Ag FIA	1	1
All Test (verdelers AKSA Medical)	Legionella pneumophila Rapid Test Cassette	3	3
Coris Bioconcept	Legionella K-Set	3	3
	Legionella V-test	1	1
IVD Research Inc	Legionella Urinary Ag Lateral Flow (LUA-LF)	1	1
Meridian	Tru Legionella	2	2
Quidel	Sofia Legionella FIA	1	1
Totaal		109	109

6.2.4. RESULTATEN

6.2.4.1. Staal Ag/19884

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat (het laboratorium dat twee testen gebruikte bekwam met beide een negatief resultaat).

De antwoorden voor de interpretatie worden weergegeven in onderstaande tabel. Eén laboratorium gaf geen interpretatie.

Tabel 6.2.2. Interpretaties voor staal Ag/19884 (Legionella antigen).

Interpretatie	N labo's
Negatief	100
Positief (visueel en/of reader) ¹	1
Bijkomende testen zijn vereist	6
Totaal	107

¹ Analytisch resultaat van dit laboratorium: negatief (mogelijk verkeerd aanvinken van de interpretatie in de aflopende lijst).

De bijkomende testen die de laboratoria vermeldden, worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.2.3. Bijkomende testen voor staal Ag/19884 (Legionella antigen).

Bijkomende testen	N labo's	
PCR op respiratoir staal	3	
PCR + cultuur op respiratoir staal	1	
Urinair antigeen van <i>L. pneumophila</i> serogroep 1 werd niet gedetecteerd. Andere serogroepen en species van <i>Legionella</i> worden met deze test niet adequaat opgespoord. Bijkomend onderzoek van respiratoire secreties is aangewezen indien klinische verdenking op infectie met <i>Legionella</i> .	1	
Niet vermeld	1	
Totaal	6	

Meerdere laboratoria die de interpretatie “negatief” gaven, gaven wel een opmerking in het “vrije tekst” veld:

- Indien klinisch sterk vermoeden van *Legionella*, is de negatieve antigenetest onvoldoende om legionellose uit te sluiten, aangezien enkel *L. pneumophila* serogroep 1 opgespoord wordt. In overleg met aanvragende arts kan bijkomend een cultuur en PCR op een respiratoir monster uitgevoerd worden. Daarnaast zouden wij voorstellen om een respiratoir panel uit te voeren en blinde hemoculturen af te nemen.
- PCR *Legionella* sp. uitvoeren op staal van de onderste luchtwegen in geval van twijfel
- In geval van sterk klinisch vermoeden (verblijf in een hotel met meerdere gevallen, ongunstige klinische evolutie...), kan een kweek of een PCR uitgevoerd worden op een respiratoire afname.
- Als klinisch verdacht en verdere respiratoire deterioratie: bijkomende Legionella PCR / respiratoire multiplex
- Op basis van de diagnostische regel 104 kan het opsporen van het *Legionella* Ag enkel uitgevoerd worden bij gehospitaliseerde patiënten ouder dan 18. Gezien de patiënt van staal 19884 zich aanbiedt bij zijn huisarts, kan deze test niet uitgevoerd worden bij een niet-gehospitaliseerde patiënt als hij niet voorgeschreven wordt door een specialist.
- Maar gezien de klinische context zou deze test net mogen uitgevoerd worden.
- RIZIV-facturatie enkel indien arts-specialist en gehospitaliseerde patiënt.
- Onvoldoende klinische gegevens om definitief de noodzaak van een *Legionella*/Pneumokok antigen test te rechtvaardigen (épidemiologische context, contact met bronnen van thermaal water, ...). Idee over het tijdstip? (recent?)

92 laboratoria zouden in routine het urinair Legionella Ag bepalen, 16 zouden dit niet doen. 49 laboratoria zouden in routine het urinair pneumokokken Ag bepalen, 58 zouden dit niet doen. Eén laboratorium antwoordde: “Pneumokokken antigen wordt enkel uitgevoerd indien aangevraagd”.

6.2.4.2. Staal Ag/19908

106 laboratoria bekwamen een positief resultaat (het laboratorium dat twee testen gebruikte bekwam met beide een positief resultaat).

Twee laboratoria bekwamen een negatief resultaat; beiden gebruikten de kit Binax Now Legionella Urinary Antigen test (Abott); de overige 95 gebruikers van deze kit bekwamen een positief resultaat.

De antwoorden voor de interpretatie worden weergegeven in onderstaande tabel. Eén laboratorium gaf geen interpretatie

Tabel 6.2.4. Interpretaties voor staal Ag/19908 (*Legionella* antigen).

Interpretatie	N labo's
Positief (visueel en/of reader)	93
Positief (enkel reader)	8
Bijkomende testen zijn vereist	5
Negatief	1
Totaal	107

Eén van beide laboratoria die een negatief analytisch resultaat bekwam, gaf las interpretatie “positief”.

De bijkomende testen die de laboratoria vermeldden, worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.2.5. Bijkomende testen voor staal Ag/19908 (*Legionella* antigen).

Bijkomende testen	N labo's
PCR + cultuur op respiratoir staal	3
Cultuur op respiratoir staal	2
Totaal	5

Meerdere laboratoria die de interpretatie “positief” gaven, gaven wel een opmerking in het “vrije tekst” veld:

- Een staalname ter hoogte van de onderste luchtwegen is aangeraden. De oorzaak van de infectie moet opgespoord worden.
- Positief kan controles inhouden.
- Indien Legionella antigeentest positief op urine, wordt contact opgenomen met aanvragende arts om een sputum staal af te nemen voor op te sturen voor kweek en typering.
- Cultuur, PCR en typering op respiratoir staal. Maar gezien de klinische context zou deze test net mogen uitgevoerd worden.
- Bevestiging met PCR op een respiratoir monster is wenselijk

103 laboratoria zouden in routine het urinair Legionella Ag bepalen, 3 zouden dit niet doen.

66 laboratoria zouden in routine het urinair pneumokokken Ag bepalen, 40 zouden dit niet doen. Eén laboratorium antwoordde: “Pneumokokken antigen wordt enkel uitgevoerd indien aangevraagd”. Eén laboratorium beantwoordde deze vraag niet.

6.2.5. COMMENTAAR

Commentaar Legionella antigen Ag/19884 en Ag/19908.

Voor beide stalen werd een uitstekend resultaat bekomen, 100% correct voor staal 19884, versus 98.1% juiste antwoorden voor staal 19908. Uit de resultaten blijkt dat de BinaxNOW Legionella Urinary Ag test van Abbott de meest gebruikte assay is.

Het genus Legionella bevat meer dan 60 species en 70 serotypes, waarvan de meerderheid ziekte kan veroorzaken. *Legionella pneumophila* serogroep 1 veroorzaakt 80-90% van alle Legionella ziektes. Andere, minder voorkomende oorzaken van Legionellose zijn *Legionella pneumophila* serogroep 2-15, *Legionella micdadei*, *Legionella dumoffi*, *Legionella bozemanii* en *Legionella longbeachae*.

Volgens het laatste NRC Legionella activiteitenrapport van 2011-2020, wordt Legionella nog steeds voornamelijk gedetecteerd door gebruik te maken van het urinair antigen (61.3%). 18.6% van de gevallen was positief via cultuur, maar negatief met de urinaire antigen sneltest. Vanaf 2013 werd ook PCR een belangrijkere methode in de diagnostiek van Legionella ten koste van diagnostiek via cultuur. De urinaire antigenest blijft echter een belangrijk diagnostisch middel, gezien er geen invasief respiratoir staal moet worden afgenomen.

Bijkomend, vermeldt het NRC nog in zijn rapport dat een Legionella infectie in 41% van de gevallen in de gemeenschap werd opgelopen, 10% nosocomiaal en 10% in het buitenland.

Bijkomend werd er geïnformeerd naar wie een pneumokokken antigen test zou uitvoeren:

In 49 van de 92 laboratoria (53%) zou in de routine ook een urinair pneumokokken antigenest uitgevoerd worden op staal Ag/19884. Voor staal Ag/19908 zouden 66 van de 105 labo's een pneumokokken Ag test uitvoeren (63%).

De urinair pneumokokken antigen test kan een aanvulling zijn bij het stellen van de diagnose van pneumokokkenpneumonie bij volwassenen. De test is eenvoudig en snel uit te voeren en er werd aangetoond in een meta-analyse dat deze test een sensitiviteit heeft van 74% (95% confidence Interval [CI], 66.6% to 82.3%) en een hoge specificiteit van 97% (95% CI, 92.7% to 99.8%) voor de diagnose van pneumokokkenpneumonie bij volwassenen. (Sinclair A. et al. J Clin Microbiol. 2013) De brede range van gerapporteerde sensitiviteit kan enerzijds verklaard worden door de verschillende populaties die geïnccludeerd werden in de verschillende studies, de verschillende definities van pneumonie, maar mogelijks ook door verschillende serotype distributies. De in België vaak gebruikte BinaxNOW *S. pneumoniae* test (Abott) vertoont mogelijks een verschillende sensitiviteit voor verschillende serotypes. De test is gebaseerd op de detectie van het C polysaccharide (teichoïnezuur), een component van de celwand van pneumokokken, dat geëxcreteerd wordt in de urine. Hoewel dit C polysaccharide aanwezig is in elke pneumokok, kan de samenstelling verschillen bij bepaalde serotypes, wat een verklaring kan zijn voor de lagere sensitiviteit voor bepaalde serotypes. (Shoji H et al. J Clin Microbiol. 2018)

Omwillen van de hoge specificiteit wordt deze test mogelijks ook in enkele ziekenhuizen gebruikt om (in combinatie met andere testen) een pneumokokkenpneumonie uit te sluiten. Aangezien naast pneumokokken, ook andere bacteriën de oorzaak kunnen zijn van een pneumonie, is het

onduidelijk of het uitvoeren van een pneumokokken antigeen test ook weldegelijk een impact heeft op de behandeling van de patiënt (o.a. keuze en duur van antibioticumtherapie).
Klinische studies zijn nodig om de impact van deze test op de behandeling en eventuele klinische uitkomst van patiënten te onderzoeken.
Bij kinderen wordt het gebruik van de urinair pneumokokken antigeen test afgeraden aangezien de test geen onderscheid kan maken tussen (asymptotisch) dragerschap en infectie. Gezonde kinderen zijn vaak drager van pneumokokken en zullen vaak positief testen. De specificiteit (62.9%) van de test is lager dan bij volwassenen (Dominguez J et al. J Clin Microbiol. 2003)

M. Depypere en S Desmet, UZ Leuven

EINDE

© Sciensano, Brussel 2024.

Dit rapport mag niet gereproduceerd, gepubliceerd of verdeeld worden zonder akkoord van Sciensano. De individuele resultaten van de laboratoria zijn vertrouwelijk. Zij worden door Sciensano niet doorgegeven aan derden, noch aan de leden van de Commissie, de expertencomités of de werkgroep EKE.