

MICROBIOLOGIE

In 2001 werden er 3 enquêtes georganiseerd in het kader van de EKE in de microbiologie. Voor de 3 enquêtes waren er respectievelijk 255, 254 en 250 laboratoria ingeschreven. De deelname van de laboratoria bedroeg voor elke enquête respectievelijk 252, 246 en 245. Zeven laboratoria (2,7%) namen deel aan 1 enquête, 7 (2,7%) namen deel aan 2 enquêtes en 241 (94,6%) aan de 3 enquêtes. Vijf laboratoria stopten hun activiteiten en 3 schreven zich niet tijdig in.

Men onderscheidt 136 hospitaallaboratoria, 74 privaat laboratoria, 9 laboratoria in poliklinieken en 36 niet-gedefinieerde laboratoria.

I. Verslag van de identificatie van de culturen

De 10 culturen werden onder gevriesdroogde vorm verzonden. Het betrof 9 reinculturen en 1 mengsel.

De correcte en aanvaardbare identificaties werden telkens in het rapport vermeld, samen met een korte omschrijving van de kenmerken van de kiemen.

Drie culturen (*Pseudoallescheria boydii*, *Propionibacterium acnes* en *Staphylococcus epidermidis*) werden opgestuurd vanwege het educatief belang en werden **niet** in aanmerking genomen voor evaluatie. Voor de cultuur *S. epidermidis* werden enkel de resultaten van de identificatie en **niet** die van de gevoeligheidstesten geëvalueerd.

I.a. Verdeling van de resultaten per monster. De oorsprong van elke kiem wordt tussen haakjes vermeld.

	% aanvaardbare identificaties
<i>Escherichia coli</i> (urine)	100,0
<i>Staphylococcus aureus</i> (ooretter)	99,6
<i>Haemophilus influenzae</i> (longaspiraats)	97,1
<i>Listeria monocytogenes</i> (stalen van een doodgeboren kind)	97,8
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (hemocultuur)	96,8
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (chronische osteomyelitis)	95,9
<i>Yersinia enterocolitica</i> (feces)	94,3
<i>Shigella sonnei</i> (feces)	94,1
Educatieve monsters :	
<i>Propionibacterium acnes</i> (hemocultuur)	77,6
<i>Pseudoallescheria boydii</i> (wonde)	51,6

- I.b. Verdeling van de laboratoria volgens het aantal niet aanvaardbare identificaties.

Elk laboratorium diende 8 identificaties te verwezenlijken.

Onderstaande tabel geeft de verdeling van de laboratoria weer volgens het aantal niet aanvaardbare identificaties.

Aantal niet aanvaardbare identificaties	Aantal laboratoria N=255 (%)
0	216 (84,7)
1	31 (12,2)
2	8 (3,1)

223 (87,5%) laboratoria hebben alle identificaties correct of aanvaardbaar beantwoord. In het totaal hebben 32 (12,5%) laboratoria niet aanvaardbare identificaties vermeld. Van deze laboratoria hebben 24 (9,4%) 1 foutieve identificatie vermeld en 8 (3,1%) 2 foutieve identificaties.

Negentien laboratoria identificeerden niet al de kiemen. Twaalf onder hen identificeerden 1 educatief monster niet en 2 laboratoria identificeerden geen van beide educatieve monsters. We noteerden 9 laboratoria die 1 monster niet identificeerden, 2 laboratoria die 2 monsters niet identificeerden, 2 laboratoria 3 monsters, 3 laboratoria 4 monsters, 2 laboratoria 5 monsters en 1 laboratorium (connexist) identificeerde 8 monsters niet.

Indien het niet-antwoorden van een evaluatiemonster als foutief wordt beschouwd, bekomen we de volgende resultaten:

Aantal niet aanvaardbare identificaties	Aantal laboratoria N=255 (%)
0	204 (80,0)
1	34 (13,3)
2	10 (3,9)
3	1 (0,4)
4	3 (1,2)
5	1 (0,4)
6	2 (0,8)

I.c. Evaluatie van de Gram kleuringen

Voor het eerst en bij wijze van experiment, werden microscoopplaatjes met gefixeerde bacteriënsuspensies rondgestuurd voor de evaluatie van de Gram kleuringen.

De volgende tabel geeft een samenvatting van de ontvangen resultaten.

	Enterobacter aerogenes	Rhodococcus equi	Neisseria meningitidis
Gram -	200	34	278
kok/diplokok	1	12	240
staafje	152	22	3
coccobacil	47		35
Gram +	34	367	27
kok/diplokok	4	207	25
staafje	27	129	
coccobacil	3	31	2
Gram label	32	17	
kok/dipiokok			
staafje	32	17	
coccobacil			

Aan de hand van de ontvangen opmerkingen van de EKE deelnemers, zal men in de toekomst voor de Gram-kleuringen, microscoopplaatjes van kiemen met cellen opsturen, om zo beter klinische stalen na te bootsen.

II. Evaluatie van de gevoeligheidsbepalingen

De antibiogrammen van 4 kiemen, *Streptococcus pneumoniae* (M/2734), *Escherichia coli* ATCC 25922 (M/2259), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (M/2260) en *Staphylococcus epidermidis* (M/3064) werden uitgetest tegenover een welbepaalde reeks antibiotica.

Vanwege het didactische karakter werden de resultaten van de gevoeligheidstesten van *Staphylococcus epidermidis* niet geëvalueerd.

De keuze van de antibiotica was vrij voor de bepaling van de gevoeligheid van *Streptococcus pneumoniae* (M/2734). Een totaal van 41 antibiotica werd getest door de deelnemers. Enkel de resultaten van de relevante antibiotica werden geëvalueerd. De resultaten zijn weergegeven in onderstaande tabel.

De resultaten van de gevoeligheidstesten

	Diffusie			Dilutie		
	S	I	R	S	I	R
oxacilline		4	126	1	5	4
penicilline				2	94	54
vancomycine	58			39		
erythromycine	166			37		
tetracycline	49			5		
ofloxacin	17	2	1	17	1	
clindamycine	29			11		
cotrimoxazole	12	4	18	1		
cefotaxime				32	32	4
ceftriaxone				29	18	
cefuroxime				2	2	4
doxycycline	61			2		

Het bepalen van de gevoeligheid van *S. pneumoniae* voor penicilline gebeurt aan de hand van een oxacilline-schijfje van 1 microgram. Als de kiem hier gevoelig aan is, kan hij beschouwd worden als gevoelig aan penicilline (evenals aan ampicilline, amoxicilline amoxicilline-clavulaanzuur, ampicilline-sulbactam, cefaclor, cefdinir, cefepime, cefetamet, cefixime, cefotaxime, cefprozil, ceftibuten, ceftriaxone, cefuroxime, cefpodoxime, ceftizoxime, imipenem, loracarbef en meropenem). Als de pneumokok in vitro niet gevoelig is aan oxacilline, is het, ingeval van diepe isolaten, aanbevolen een MIC bepaling voor penicilline (en cefotaxime/ceftriaxone) uit te voeren. Deze MIC bepaling wordt echter wel enkel terugbetaald i.g.v. isolatie uit bloed, CSV of andere monsters uit normaal steriele lichaamsdelen.

De twee ATCC stammen, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en *Escherichia coli* ATCC 25922, worden gebruikt voor de evaluatie en controle van het antibiogram. De inhibitiezone van de verschillende antibiotica schijfjes of tabletten dienen binnen de grenswaarden te vallen. Deze grenswaarden zijn opgegeven door NCCLS voor de papieren schijfjes en door ROSCO voor de tabletten.

In het globaal rapport 2001/2 verschenen de volgende resultaten met bespreking ervan.

Tabel 1 : M/2260, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

NCCLS-methode: % (aantal) antwoorden met een te kleine of te grote diameter

NCCLS	lading	< diameter	> diameter
ofloxacin	5 µg	43 % (12/28)	0 % (0/28)
clindamycine	2 µg	40 % (20/50)	2 % (1/50)
levofloxacin	5 µg	33 % (3/9)	0 % (0/9)
cotrimoxazole	1.25+23.75 µg	18 % (10/55)	4 % (2/55)
oxacilline	1 µg	11 % (5/46)	11 % (5/46)
penicilline	10 IU	10 % (5/51)	10 % (5/51)
ciprofloxacin	5 µg	19 % (7/37)	0 % (0/37)
erythromycine	15 µg	14 % (7/50)	2 % (1/50)
norfloxacin	10 µg	0 % (0/32)	9 % (3/32)

Tabel 2 : M/2260, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

ROSCO: % antwoorden met een te kleine of te grote diameter

ROSCO	diffundeerbare lading	< diameter	> diameter
ofloxacin	10 µg	2 % (1/62)	23 % (14/62)
clindamycine	25 µg	21 % (20/95)	2 % (2/95)
ciprofloxacin	10 µg	1 % (1/73)	22 % (16/73)
erythromycine	78 µg	6 % (6/108)	16 % (17/108)
cotrimoxazole	5.2+240 µg	10 % (11/104)	6 % (6/104)
penicilline	5 µg	6 % (6/104)	9 % (9/104)
norfloxacin	10 µg	2 % (1/51)	12 % (6/51)

Tabel 3 : 2259, *Escherichia coli* (ATCC 25922)

NCCLS-methode: % (aantal) antwoorden met een te kleine of te grote diameter

NCCLS	lading	< diameter	> diameter
levofloxacin*	5 µg	63 % (5/8)	0 % (0/8)
ofloxacin	5 µg	46 % (11/24)	4 % (1/24)
cefazoline	30 µg	33 % (11/33)	0 % (0/33)
ampicilline	10 µg	19 % (10/51)	6 % (3/51)
norfloxacin	10 µg	18 % (7/40)	5 % (2/40)
ciprofloxacin	5 µg	18 % (7/38)	0 % (0/38)
amoxiclav	20 + 10 µg	10 % (5/52)	2 % (1/52)
cotrimoxazole	1.25 + 23.75 µg	9 % (5/55)	2 % (1/55)
gentamicine	10 µg	10 % (4/40)	0 % (0/40)
cefuroxime	30 µg	4 % (2/49)	2 % (1/49)
cefalothine	30 µg	0 % (0/21)	5 % (1/21)

* de mediaan ligt buiten de grenzen

Tabel 4 : M/2259, *Escherichia coli* (ATCC 25922)

ROSCO: % (aantal) antwoorden met een te kleine of te grote diameter

ROSCO	diffundeerbare lading	< diameter	> diameter
norfloxacin	10 µg	30 % (26/86)	6 % (5/86)
cefazoline	60 µg	15 % (10/69)	3 % (2/69)
ciprofloxacin	10 µg	13 % (9/69)	3 % (2/69)
ampicilline	33 µg	9 % (9/102)	9 % (9/102)
cefalothine	66 µg	9 % (4/45)	5 % (2/45)
ofloxacin	10 µg	11 % (6/55)	2 % (1/55)
cefuroxime	60 µg	9 % (8/93)	2 % (2/93)
gentamicine	40 µg	7 % (5/72)	4 % (3/72)
amoxiclav	30+ 15 µg	4 % (4/106)	3 % (3/106)
cotrimoxazole	5.2+240 µg	4 % (4/100)	3 % (3/100)

Voor *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 waren er met de NCCLS-methode (tabel 1) beduidend meer deelnemers met een te kleine diameter, met de ROSCO-methode (tabel 2) het tegenovergestelde. Het was niet mogelijk om de resultaten voor oxacilline met de ROSCO-methode te evalueren omdat er twee soorten schijfjes in omloop zijn (1 en 5 µg).

De verschillen tussen beide methodes waren significant wanneer we de vergelijking maakten tussen juiste, te kleine en te grote diameter ($p \leq 0.001$) en niet significant wanneer we de vergelijking maakten tussen juist en niet-juist ($p = 0.098$). Deze verschillen zouden ondermeer kunnen verklaard worden door het feit dat de diffundeerbare ladingen van de ROSCO-tabletten duidelijk hoger zijn dan deze van de NCCLS-schijfjes.

Met *Escherichia coli* ATCC 25922 waren er zowel met de NCCLS-methode (tabel 3) als met de ROSCO-methode (tabel 4) beduidend meer deelnemers met een te kleine diameter dan met een te grote diameter. Resultaten met een te grote diameter kwamen meer voor bij ROSCO dan bij NCCLS. De verschillen tussen beide methodes waren niet significant wanneer we de vergelijking maakten tussen juiste, te kleine, te grote diameter ($p = 0.03$) en niet significant wanneer we de vergelijking maakten tussen juist en niet-juist ($p = 0.15$).

Wanneer we het NCCLS criterium voor de wekelijkse kwaliteitscontrole, namelijk maximaal één afwijkende waarde op tien, hanteerden dan stelden we vast dat slechts heel weinig moleculen aan dit criterium voldeden. Opvallend was de zwakke score voor de chinolones voor beide ATCC-stammen.

PARASITOLOGIE

Er werden drie enquêtes voor de evaluatie van het parasitologisch onderzoek georganiseerd. Voor elke enquête waren er respectievelijk 264, 233 en 234 deelnemers ingeschreven.

1. Enquête 1

229 laboratoria namen deel aan deze enquête.

Twee fecessuspensies in formol, P/2732 en P/2776, werden rondgestuurd.

P/2732 bevatte cysten en trofozoïeten van *Giardia lamblia*. *Giardia lamblia* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd herkend door 227 (99,1%) laboratoria. De cysten werden teruggevonden door 219 deelnemers en de trofozoïeten door 100 deelnemers.

Het monster P/2776 was negatief, het bevatte geen enkele parasiet. Nochtans vermeldden 21 (9,2%) laboratoria de "aanwezigheid" van parasieten.

2. Enquête 2

224 laboratoria namen deel aan deze enquête.

Elk laboratorium ontving twee gefixeerde bloeduitstrijkjes, P/2919 en P/2920.

Het uitstrijkje P/2919 bevatte *Trypanosoma brucei* trypomastigoten. Deze parasiet werd door zeven (3,1%) laboratoria niet teruggevonden.

Het uitstrijkje P/2920 bevatte *Plasmodium falciparum* trofozoïeten en zeldzame schizonten en gametocyten. Vanwege de moeilijkheidsgraad van het uitstrijkje, werd deze parasiet slechts door 148 (66,1%) laboratoria herkend.

3. Enquête 3

230 laboratoria namen deel aan deze enquête.

Er werd één fecessuspensie in formol rondgestuurd.

De suspensie P/3126 bevatte oöcysten van *Cryptosporidium* sp. De parasiet werd teruggevonden door 186 (80,9%) deelnemers. Hetzelfde staal bevatte eveneens microsporidia, die door 7 laboratoria werden teruggevonden, maar werd niet in aanmerking genomen voor evaluatie.

Het correcte ontwikkelingsstadium werd vermeld door 175 laboratoria.

INFECTIEUZE SEROLOGIE

In 2001 werden serologische parameters voor CMV, EBV, Toxoplasmose, HIV en Syfilis geëvalueerd. Het aantal deelnemers varieerde in functie van de geëvalueerde parameter.

1. CMV en EBV

Er werden 2 gelyofiliseerde plasma's onderzocht, S/2340 en S/2396.

Het monster S/2340 bevatte IgG en IgM antilichamen tegen CMV en IgG antilichamen tegen EBV

Het monster S/2396 bevatte IgG en IgM antilichamen tegen CMV en IgG antilichamen tegen EBV

De monsters waren vergezeld van de volgende klinische informatie: "Patiënte van 25 jaar met klieren en klachten van vermoeidheid. De stalen werden afgenomen met een interval van 3 weken. "

Een totaal van 242 laboratoria nam deel aan deze enquête.

1.1 CMV

Vooraf reagentia van AxSYM (Abbott) en Vidas (bioMérieux) werden gebruikt voor het opsporen van de IgG en IgM : 37,7% AxSYM CMV IgG, 31,4% AxSYM CMV IgM, 37,2% Vidas CMV IgG, 42,1% Vidas CMV IgM.

Tabel 1 : Verdeling van de resultaten per monster

	S/2340	Verwacht resultaat	S/2396	Verwacht resultaat
Igtot	N= 8		N=7	
positief	8	X	7	X
negatief	0		0	
borderline	0		0	
zonder resultaat	0		0	
IgG	N=231		N=231	
positief	221	X	215	X
negatief	0		0	
borderline	0		0	
zonder resultaat	10		16	
IgM	N=235		N=233	
positief	228	X	189	X
negatief	1		10	
borderline	3		30	
zonder resultaat	3		4	

De meeste laboratoria (232 hetzij 96,3%) bepaalden zowel IgG als IgM en 62 (hetzij 25,7%) laboratoria bepaalden de IgG aviditeit.

Wat de klinische interpretatie betreft: 190 (78,8%) deelnemers beschouwden de serologie resultaten suggestief voor een primaire infectie, 36 (14,9%) laboratoria gaven geen klinische interpretatie.

1.2 EBV

Er werd een grote verscheidenheid aan reagentia gebruikt voor zowel de dosering van IgG als van IgM. De Enzygnost anti-EBV IgG en IgM van Dade Behring was de meest gebruikte kit met respectievelijk 26,7% en 29,6% gebruikers.

Tabel 2 : Verdeling van de resultaten per monster

	S/2340	Verwacht resultaat	S/2396	Verwacht resultaat
Heterofiele antistoffen	N= 11		N=11	
positief	0		0	
negatief	11	X	11	X
borderline	0		0	
zonder resultaat	0		0	
IgG	N=224		N=224	
positief	218	X	218	X
negatief	6		5	
borderline	0		1	
zonder resultaat	0		0	
IgM	N=203		N=203	
positief	10		11	
negatief	188	X	188	X
borderline	5		4	
zonder resultaat	0		0	

De vals negatieve IgG resultaten werden bekomen met de opsporing voor de anti-EA IgG antilichamen. Positieve of borderline positieve IgM resultaten werden bekomen door 15 (7,4%) labo's en dit op beide plasmamonsters. Deze resultaten wijzen op kruisreacties met andere herpesvirussen.

De resultaten van deze serologie was voor 180 (74,7%) laboratoria suggestief voor een oudere infectie met EBV. 48 (19,9%) deelnemers gaven geen klinische interpretatie.

2. Toxoplasmose

Er werden 2 gelyofiliseerde plasmamonsters opgestuurd. De monsters S/2343 en S/2724 waren beiden IgG en IgM positief. Beide monsters waren afkomstig van een zelfde patiënt. Het tweede monster, afgenomen na een interval van 3 maand, vertoonde een stijging in IgG en een afname in IgM.

De volgende klinische informatie werd gegeven: "Beide monsters zijn afkomstig van een zelfde patiënt en werden afgenomen met een interval van 3 maand. Een jonge vrouw van 27 jaar klaagt van vermoeidheid en vertoont klieren."

227 laboratoria namen deel aan de enquête.

Voor zowel het opsporen van IgG als IgM antistoffen werden voornamelijk de reagentia van Abbott en bioMérieux gebruikt.

Tabel 1: Verdeling van de resultaten per monster

	S/2343	Verwacht resultaat	S/2724	Verwacht resultaat
IgG	N= 238		N=238	
positief	213	X	218	X
negatief	2		0	
borderline	5		0	
zonder resultaat	18		20	
IgM	N=241		N=245	
positief	229	X	201	X
negatief	1		8	
borderline	0		25	
zonder resultaat	11		11	
IgA	N=18		N=18	
positief	18	X	18	X
negatief	0		0	
borderline	0		0	

De IgG aviditeit werd bepaald voor het monster S/2343 en S/2724 door respectievelijk 73 (32,2%) en 72 (31,7%) laboratoria.

De klinische interpretatie van de serologische resultaten werd gegeven door 222 (97,8%) laboratoria. Het correcte antwoord 'recente infectie' werd opgegeven door 173 (76,2%) laboratoria.

3. HIV en syfilis

Drie vloeibare geïnactiveerde en gedefibrineerde plasmamonsters werden rondgestuurd, S/3180, S/3181 en S/3182.

Het monster S/3180 bevatte HIV-antistoffen en syfilis antistoffen
S/3181 bevatte geen HIV-antistoffen en geen syfilis antistoffen
S/3182 bevatte HIV-antistoffen en geen syfilis antistoffen.

3.1. HIV

Aan deze enquête namen 235 laboratoria deel.

Voor deze drie monsters werden er respectievelijk 274, 266 en 276 testen uitgevoerd.

Op de positieve monsters werden meerdere testen per laboratorium uitgevoerd; 198 (84,2%) laboratoria voerden 1 test uit, 35 (14,8%) laboratoria voerden 2 testen uit en 2 (1%) laboratoria voerden 3 testen uit.

Tabel 1 : Verdeling van de resultaten per staal

	S/3180	Verwacht resultaat	S/3181	Verwacht resultaat	S/3182	Verwacht resultaat
Antistof	N=274		N=266		N=276	
positief	267	X	8		272	X
negatief	5		256	X	3	
borderline	0		1		1	
zonder resultaat	2		1		0	

Twee laboratoria bepaalden het AgP24, wat niet gevraagd wordt in deze evaluaties. Zij maken deel uit van de deelnemers, die een negatief resultaat gaven voor de positieve monsters.

Eén laboratorium maakte vermoedelijk een transcriptiefout of wisselde de stalen om.

De laboratoria werd gevraagd of zij deze stalen naar een referentielaboratorium zouden doorsturen. De antwoorden op deze vraag zijn samengevat in tabel 2.

Tabel 2: Overzicht van het aantal laboratoria die de stalen zouden doorsturen naar een AIDS referentielaboratorium (ARL)

	Stuurt door naar een ARL	Stuurt niet door naar een ARL
S/3180	213	21
S/3181	10	223
S/3182	217	18

Van de 8 laboratoria die een vals positief resultaat gaven voor het monster S/3181, zouden 2 laboratoria het monster niet doorsturen naar een ARL.

In het globaal rapport werd nogmaals de nadruk gelegd op het feit dat alle HIV-positieve monsters naar een ARL dienen te worden opgestuurd voor confirmatie van het resultaat.

3.2 Syfilis

In het totaal namen 211 laboratoria deel aan deze enquête.

Op elk monster werden frequent meerdere testen uitgevoerd. Voor het positieve monster S/3180 voerden 159 (75,4%) laboratoria 2 verschillende testen uit, voornamelijk met de methode RPR/VDRL en de methode TPHA/TPPA.

Tabel 1 : Verdeling van de resultaten per staal

	S/3180	Verwacht resultaat	S/3181	Verwacht resultaat	S/3182	Verwacht resultaat
Resultaat	N=432		N=426		N=426	
sterk positief	288	X				
positief	129		8		4	
borderline	3		8		1	
negatief	12		410	X	421	X

De onderstaande tabel geeft het aantal foutieve resultaten (het antwoord borderline werd als foutief aanzien) per methode ten opzichte van het totaal aantal gebruikers van de methode .

Tabel 2: Verdeling van de foutieve resultaten per monster in functie van de methode

	TPHA/TPPA	RPR/VDRL	FTA	EIA	andere
S/3180	3/192	10/193	1/46	1/14	0/2
S/3181	3/191	7/190	5/35	0/13	1/2
S/3182	3/190	2/191	0/35	0/13	0/2

De vals negatieve resultaten voor het monster S/3180 met de RPR/VDRL methoden, zouden kunnen te wijten zijn aan het prozonefenomeen. De resultaten werden bekomen zowel met de RPR als met de VDRL en dit van verschillende producenten.