

WIV
J. Wytsmanstraat, 14
B-1050 BRUSSEL

FEDERALE OVERHEIDSDIENST, VOLKSGEZONDHEID, VEILIGHEID VAN DE
VOEDSELKETEN EN LEEFMILIEU
COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE

DIENST LABORATORIA VOOR KLINISCHE BIOLOGIE
COMITES VAN DESKUNDIGEN

JAARRAPPORT 2007

EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE
VOOR ANALYSEN KLINISCHE BIOLOGIE

MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE/PARASITOLOGIE

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website :
http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_nl/rapports_annee.htm

WIV/2007/Micro./Sero./Para. 70

Dit rapport mag uitsluitend worden gereproduceerd, gepubliceerd of gedistribueerd met toestemming van het WIV.

COMITE VAN EXPERTEN VOOR MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE

WIV (secretariaat) : 02/642.55.22 - FAX : 02/642.56.45
(Dr. K. Vernelen) : 02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45
(Coördinator) : e-mail : kris.vernelen@iph.fgov.be
Dr. BODEUS Monique : 02/764.67.31 - FAX : 02/764.69.33
: e-mail : bodeus@mblg.ucl.ac.be
Dr. CLAEYS Geert : 09/240.36.45 – FAX : 09/240.36.59
: e-mail : geert.claeys@ugent.be
Dr. DE BEENHOUWER Hans : 053/72.42.72 – FAX : 053/72.45.88
: e-mail : hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be
Dr. DE GHELDRE Yves : 02/340.41.34 – FAX : 02/340.41.79
: e-mail : yves.degheldre@chirec.be
Dr. DEDISTE Anne : 02/535.45.42
: e-mail : anne_dediste@stpierre-bru.be
Dr. DELFORGE Marie-Luce : 02/555.34.53 – FAX : 02/555.64.59
: e-mail : mdelforg@ulb.ac.be
Dr. LAGROU Katrien : 016/34.70.98 – FAX : 016/34.79.31
: e-mail : katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be
Apr. LONTIE Marc : 016/31.01.72 – FAX : 016/31.01.88
: e-mail : marc.lontie@mchlvwo.be
Dr. LUYASU Victor : 010/43.73.30 - FAX : 010/43.71.88
: e-mail : victor.luyasu@skynet.be
Dr. MAGERMAN Koen : 011/30.97.40 – FAX : 011/30.97.50
: e-mail : koen.magerman@virgajesse.be
Dr. NAESSENS Anne : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15
: e-mail : anne.naessens@uzbrussel.be
Dr. PIERARD Denis : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15
: e-mail : denis.pierard@uzbrussel.be
Dr. REYNDERS Marijke : 02/535.45.35 – FAX : 02/535.46.56
: e-mail : marijke_reynders@stpierre-bru.be
Dr. VAN ESBROECK Marjan : 03/247.64.37 – FAX : 03/247.64.40
: e-mail : mvesbroeck@itg.be
Dr. VERHAEGEN Jan : 016/34.70.73 – FAX : 016/34.79.31
: e-mail : jan.verhaegen@uz.kuleuven.ac.be
Dr. WOESTYN Sophie : 056/85.58.85 – FAX : 056/85.58.86
: e-mail : sophie.woestyn@skynet.be

Inhoudsopgave

I.	Microbiologie.....	1
1.1	Verslag van de identificatie van de culturen	1
1.1.1.	Verdeling van de resultaten per monster	1
1.1.2.	Verdeling van de laboratoria volgens het aantal aanvaardbare identificaties.....	3
1.2.	Evaluatie van de gevoeligheidsbepalingen	4
1.2.1.	Bacteroides fragilis M/7021	4
1.2.2.	Escherichia coli M/7253	7
1.2.3.	Pseudomonas aeruginosa, metallo- β -lactamase (VIM-1) M/7295 en Pseudomonas aeruginosa, metallo- β -lactamase (SPM-1) M/7298	9
1.2.4.	Staphylococcus aureus M/7758	13
1.2.5.	Klebsiella pneumoniae M/7759	15
II.	Parasitologie.....	18
2.1.	Enquête 1	18
2.2.	Enquête 2.....	19
2.3.	Enquête 3.....	20
2.4.	Gebruik van de Toolkit	21
III	Infectieuze serologie	22
3.1.	Borrelia	22
3.2.	Rubella.....	24
3.3.	HAV.....	27
3.4.	HBV	29
3.5.	Syfilis.....	31
3.6.	Brucella.....	34
3.7.	HIV	36
IV	Rejectie van niet geschikte stalen	38

I. MICROBIOLOGIE

In 2007 werden er 3 enquêtes georganiseerd in het kader van de EKE in de microbiologie. 186 laboratoria namen aan minstens één enquête deel. 3 laboratoria (1.6%) namen deel aan 1 enquête, 3 (1.6%) namen deel aan 2 enquêtes en 180 (96.8%) aan 3 enquêtes. 1 laboratorium stopte zijn activiteiten en 2 schreven zich laattijdig in. De deelname van de laboratoria bedroeg voor de opeenvolgende enquêtes 182, 184 en 183. Men onderscheidt 117 hospitaallaboratoria, 52 privé laboratoria, 5 laboratoria in poliklinieken en 12 andere laboratoria.

1.1. Verslag van de identificatie van de culturen

1.1.1. Verdeling van de resultaten per monster

Negen culturen werden onder gevriesdroogde vorm verzonden.

Vier culturen waren klinische stalen (4 fecesstalen).

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

Tijdens de 1^e enquête werden 3 fecesstalen rondgestuurd met de vraag cultuur en toxine van *C. difficile* te bepalen. Staal M/7103 bevatte geen *Clostridium*, M/7104 een *C. difficile* en M/7274 een *C. non-difficile* (*C. perfringens*). Het verschil in correcte antwoorden tussen enerzijds M/7103 en M/7104 en anderzijds M/7274 (cfr. tabel 1.1) is te verklaren door het gegeven dat een aantal laboratoria "positief" geantwoord hebben voor dit 3^e staal zonder te specificeren welke *Clostridium* species positief was.

Tijdens de 2^e enquête werden 2 *P. aeruginosa* verstuurd met een verschillend antibiogram: M/7295 bevatte een metallo- β -lactamase type VIM-1 en M/7298 een bevatte een metallo- β -lactamase type SPM-1.

Eén stam werd met didactische bedoelingen verstuurd. Zij werd dan ook niet in aanmerking genomen bij de beoordeling. Het betrof *Salmonella diarizonae* (feces) in de 2^e enquête.

Voor *Bacteroides fragilis* (hemocultuur; enquête 2007/1) werd een identificatie tot op het genusniveau als afdoende beschouwd.

Tabel 1.1.1. Verdeling van de resultaten per monster. De oorsprong van elke kiem wordt tussen haakjes vermeld..

Kiem	% aanvaardbare identificaties
Staal negatief op <i>Clostridium difficile</i> (stoelgang)	95.3
<i>Clostridium difficile</i> (stoelgang)	93.2
<i>Clostridium non-difficile</i> (stoelgang)	84.3
<i>Bacteroides fragilis</i> (hemocultuur)	93.2
<i>Escherichia coli</i> (urine)	100.0
<i>Candida albicans</i> + <i>Candida krusei</i> (hemocultuur)	84.8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (hemocultuur)	97.8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (hemocultuur)	98.4
<i>Listeria monocytogenes</i> (lumbaalvocht)	93.4
<i>Streptococcus agalactiae</i> (sputum)	96.7
<i>Staphylococcus aureus</i> (etter)	99.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (urine)	97.8

De resultaten van de toxinebepaling voor *C. difficile* waren respectievelijk:

- M/7103 (negatief): 98.7% correcte antwoorden
- M/7104 (positief): 97.7% correcte antwoorden
- M/7274 (negatief): 98.7% correcte antwoorden

Naast deze stalen voor culturen werd er eveneens een uitstrijkje rondgestuurd, afkomstig van een hemocultuur, dat Gram negatieve staven (*E. coli*) bevatte. 79.2% van de laboratoria identificeerden deze Gram negatieve staven correct; 1.6% vermoedden naast de Gram negatieve staven ook Gram negatieve kokken; 1.1% vermoedden ook Gram positieven naast de Gram negatieve staven. Opvallend was dat 9.8% van de laboratoria enkel Gram positieven meenden vast gesteld te hebben; deze laboratoria en één laboratorium dat geen kiemen waarnam werd aangeraden hun methode voor Gramkleuring te analyseren.

1.1.2. Verdeling van de laboratoria volgens het aantal aanvaardbare identificaties

Elk laboratorium diende 12 identificaties te verwezenlijken. 120 (64.5%) laboratoria hebben alle identificaties correct of aanvaardbaar geantwoord. In het totaal hebben 66 (35.5 %) laboratoria niet aanvaardbare identificaties vermeld. Onderstaande tabel geeft de verdeling van de laboratoria weer volgens het aantal niet aanvaardbare identificaties.

Tabel 1.1.2. Aantal niet aanvaardbare identificaties (zonder de "ontbrekende" antwoorden).

Aantal niet aanvaardbare identificaties	Aantal laboratoria (N = 186)
0	120 (64.5%)
1	47 (25.3%)
2	18 (9.7%)
3	1 (0.5%)

Indien het niet-antwoorden van een evaluatiemonster zonder verklaring (laattijdige inschrijving, stoppen van de activiteiten) als foutief wordt beschouwd, bekomen we de volgende resultaten.

Tabel 1.1.3. Aantal niet aanvaardbare identificaties (met inbegrip van de "ontbrekende" antwoorden).

Aantal niet aanvaardbare identificaties	Aantal laboratoria (N = 186)
0	118 (63.4%)
1	45 (24.2%)
2	18 (9.7%)
3	1 (0.5%)
4	1 (0.5%)
5	2 (1.1%)
6/7/8	-
9	1 (0.5%)

1.2. Evaluatie van de gevoeligheidsbepalingen

De antibiogrammen van 6 kiemen, *Bacteroides fragilis* M/7021, *Escherichia coli* M/7253, *Pseudomonas aeruginosa*, metallo- β -lactamase VIM-1 M/7295, *Pseudomonas aeruginosa*, metallo- β -lactamase SPM-1 M/7298, *Staphylococcus aureus* M/7758 en *Klebsiella pneumoniae* M/7759 werden uitgetest elk tegenover een afzonderlijke reeks antibiotica.

1.2.1. *Bacteroides fragilis* M/7021

Deze stam toonde duidelijk aan dat het bepalen van een antibiogram voor anaëroben geen evidentie is. Inderdaad, daar waar **180 laboratoria de identificatie uitvoerden** (hoewel enkele laboratoria er uiteindelijk niet in slaagden het staal tot kweek te brengen), hebben **slechts 138 het antibiogram voor deze kiem uitgevoerd**.

Het merendeel van de laboratoria die geen antibiogram voor deze stam bepaald hebben, vermeldde dit in routine niet uit te voeren voor anaëroben (en dergelijke stalen desgevallend door te sturen voor bepaling van het antibiogram; één laboratorium vermeldde expliciet dat diskdiffusie niet geschikt is doch dat een MIC-bepaling dient te gebeuren). Eén laboratorium verstreekte de opmerking: "Er wordt geen antibiogram uitgevoerd voor anaëroben. Er wordt telefonisch contact opgenomen met de behandelende geneesheer. Meestal betreft het een polymicrobiële infectie waarvoor volgende antibiotica worden aangeraden: piperacilline-tazobactam, amoxicilline-clavulaanzuur of imipenem." Eén laboratorium dat verklaarde in routine geen antibiogram voor anaëroben uit te voeren, vermeldde wel dat de stam een β -lactamase bezit.

De laboratoria die geen groei verkregen hadden of verklaarden dat het staal besmet was, hebben uiteraard geen antibiogram kunnen bepalen; ook vermeldde 3 laboratoria dat de groei die zij verkregen wel een identificatie toeliet maar onvoldoende was voor een bepaling van het antibiogram.

Deze stam was gevoelig voor metronidazole maar resistent tegen clindamycine en amoxicilline-clavulaanzuur.

Opvallend was dat de meeste laboratoria goed scoorden voor de antibiotica gevoeligheidstesten, terwijl de meerderheid een disk diffusie techniek gebruikte. Nochtans wordt deze techniek door de CLSI afgeraden. Naast een β -lactamase test die predictief is voor de gevoeligheid t.o.v. penicillines, beschrijft dit instituut enkel een agar dilutie methode als referentietechniek en een broth microdilutie techniek voor snel groeiende micro-organismen. Deze methoden zijn echter niet toe te passen in het routine laboratorium. Alternatieven zijn beperkt en werden beschreven in het begeleidende commentaar bij de enquête.

Alhoewel de anaërobe infecties meestal empirisch behandeld worden op basis van hun zeer voorspelbare gevoeligheid, is het belangrijk om over gevoeligheidstesten te beschikken aangezien nieuwe resistentie mechanismen beginnen op te duiken, terwijl het recent duidelijk bewezen werd dat de resistentie van anaëroben ook gepaard gaat met een slechte prognose.

Bijna alle *Bacteroides* van de BAF groep produceren een β -lactamase en zijn resistent t.o.v. penicillines; de CLSI stelt voor om penicilline en ampicilline systematisch resistent te rapporteren zonder te testen. **De cefalosporines zijn meestal ook resistent** met relatief behoud van de activiteit van cefamycines. De disk diffusie is betrouwbaar voor clindamycine, maar op voorwaarde dat de incubatie 48 uur bedraagt: de resistentie is vaak induceerbaar en in dit geval ziet de kiem er volledig gevoelig uit na 24 uur incubatie.

De disk diffusie is betrouwbaar voor metronidazole op voorwaarde dat de anaërobiose correct is. Zelfs in lage concentraties inhibeert zuurstof de werking van imidazolen.

Opvallend was dat 11 van de 12 laboratoria die het antwoord "gevoelig" gaven voor amoxicilline clavulaanzuur, gebruik maakten van de Neosensitab-schijfjes. De firma International Medical (de Belgische verdeler van Rosco) werd hieromtrent gecontacteerd; zij verzonden deze stam naar Rosco, die een onderzoek instelde, waarbij de controle in hun laboratorium duidelijk de resistentie aantoonde.

In zijn aanbevelingen drong de firma er dan ook op aan de procedure correct te volgen:

The recommended procedure for susceptibility testing of anaerobes by the diffusion method is the following:

- * Use supplemented Brucella blood agar; it supports good growth for essentially all anaerobes. Brucella agar base is supplemented with 5 $\mu\text{g/ml}$ haemin, 5% defibrinated sheep blood and 1 $\mu\text{g/ml}$ vitamin K1 (haemin and vitamin K1 may be added before sterilisation).
- * Direct suspension of colonies in broth to achieve turbidity equivalent to a 1.0 McFarland standard (3×10^8 CFU/ml). Streak the surface of the agar with a cotton swab.
- * Allow the inoculated plate to remain at room temperature (5-10 min.) until the surface of the agar looks dry. For some fastidious isolates that do not grow on control plates, pre-reduction of plates in an anaerobic environment may be necessary. Apply Neo-Sensitabs tablets.
- * Invert the inoculated plate and incubate at 35°C in an anaerobic jar or alternative anaerobic environment, for 24-48 hours.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2007/1.

Tabel 1.2.1.: Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/7021 (*Bacteroides fragilis*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	I	R
Metronidazole	S	121	120	-	1
Clindamycine	R	134	1	-	133
Amoxicilline-clavulaanzuur	R	138	12	31	95

1.2.2. Escherichia coli M/7253

Stam M/7253 was een *E.coli* ATCC35218. De CLSI raadt het gebruik van deze stam, samen met *E.coli* ATCC25922, aan voor de kwaliteitscontrole van de antibiotica die de combinatie van een β -lactam en een β -lactam-inhibitor bevatten. De *E. coli* ATCC 35218 bevat een plasmide dat drager is van een β -lactamase (geen ESBL) dat geïnactiveerd wordt door een inhibitor; daardoor is deze stam resistent tegen amoxicilline maar gevoelig voor amoxicilline-clavulaanzuur en andere β -lactam/ β -lactam-inhibitor associaties.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2007/1. Het verwachte resultaat werd opgesteld op basis van de resultaten van de verschillende experts en wordt uitgedrukt als "gevoelig", "intermediair" of "resistent". Deze resultaten worden ter informatieve titel weergegeven. Van de vermelde antibiotica heeft de CLSI enkel voor amoxicilline-clavulaanzuur de diameters en MIC-waarden bepaald voor *E. coli* ATCC35218.

Tabel 1.2.2 Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/7253 (*E coli*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	I	R	*
Ampicilline	R	175	-	-	175	-
Amoxicilline ¹	R	6	-	-	6	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	S	182	173	6	3	-
Amikacine	S	177	176	-	-	1 ³
Gentamicine	S	168	167	-	-	1 ³
Nitrofurantoïne	S	180	178	2	-	-
Co-trimoxazole	S	181	179	2	-	-
Chinolones						
Ciprofloxacin	S	103	103	-	-	-
Levofloxacin	S	17	17	-	-	-
Moxifloxacin	S	1	1	-	-	-
Norfloxacin	S	60	60	-	-	-
Ofloxacin	S	16	16	-	-	-
Nalidixinezuur	S	1	1	-	-	-
"Chinolone" ²	S	11	11	-	-	-

¹ Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor amoxicilline in plaats van voor ampicilline.

² Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

³ Eén laboratorium antwoordde wel het ruw resultaat voor amikacine en gentamicine, maar geen finaal resultaat

Alle laboratoria hebben de resistentie tegen ampicilline vastgesteld, wat dus bewijst dat alle geteste stammen het plasmide, met het β -lactamase, bevatten. De meerderheid van de laboratoria bekwamen een diameter of een MIC-waarde binnen de verwachte grenzen voor amoxicilline-clavulaanzuur. Twaalf van de 182 laboratoria (6 %) bekwamen een diameter of een MIC-waarde buiten de limieten. Acht laboratoria stelden een te grote diameter of te kleine MIC-waarde vast: 5 NEOSENSITABS-gebruikers (lading 30 + 15) (27,27, 27, 33 en 43 mm voor een verwachte diameter van 21 tot 26 mm), één gebruiker van de papieren schijfjes van Becton Dickinson (25 mm voor een verwachte diameter van 17 tot 22 mm), één VITEK-gebruiker en één VITEK compact gebruiker (MIC \leq 2 μ g/ml voor een verwachte MIC van 4/2 tot 16/8 μ g/ml). De overige 4 laboratoria hebben een te kleine diameter vermeld: 3 gebruikers van papieren schijfjes (Oxoid, bioMérieux en Becton Dickinson) (9, 16 en 15 mm respectievelijk voor een verwachte diameter van 17 tot 22 mm) en één NEOSENSITABS-gebruiker (diameter van 12 mm).

Er zijn vele mogelijke oorzaken voor deze resultaten die buiten de grenzen liggen. De houding die men hiertegenover dient aan te nemen, hangt af van de oorzaak van het probleem en wordt beschreven in de documenten van de CLSI en de firma ROSCO. Een te grote diameter of een te kleine MIC-waarde kunnen te wijten zijn aan het verlies van het plasmide met het β -lactamase, wat zich uit in gevoeligheid voor ampicilline of amoxicilline. Een te kleine diameter of een te hoge MIC-waarde kunnen het gevolg zijn van instabiliteit van het clavulaanzuur of achteruitgang van het amoxicilline. In dit geval raadt de CLSI aan een ander lot te gebruiken en de bewaaromstandigheden en de kwaliteit van de verpakking van het antibioticum te controleren.

1.2.3. *Pseudomonas aeruginosa*, metallo- β -lactamase (VIM-1) M/7295 en *Pseudomonas aeruginosa*, metallo- β -lactamase (SPM-1) M/72988

Deze beide stammen werden vooral verstuurd omwille van de bijzonderheden bij het antibiogram.

Stam M/7295 bevatte een **metallo- β -lactamase** (van het type VIM-1) en was resistent tegen ticarcilline, piperacilline-tazobactam, ceftazidime, cefepime en meropenem; de stam vertoonde een intermediaire gevoeligheid voor aztreonam en was gevoelig voor colistine.

De meeste laboratoria ondervonden geen probleem om de resistentie tegen de verschillende antibiotica terug te vinden. Zoals te verwachten was, **varieerden de resultaten van aztreonam** echter zeer sterk: de resultaten "R", "I" en "S" werden gerapporteerd en dit met alle gebruikte methoden.

Opvallend was dat 3 laboratoria de stam als resistent tegen colistine rapporteerden.

Stam M/7298 bevatte **eveneens een metallo- β -lactamase** (van het type SPM-1), was resistent tegen ticarcilline, piperacilline-tazobactam, ceftazidime, cefepime, aztreonam en meropenem en gevoelig voor colistine.

De meeste laboratoria ondervonden geen probleem om de resistentie tegen ticarcilline, de cefalosporines en meropenem terug te vinden. De gevoeligheidsbepalingen voor piperacilline-tazobactam en aztreonam vormden een grotere uitdaging: hoewel de **meerderheid van de laboratoria de stam als resistent tegen piperacilline-tazobactam rapporteerden**, vonden 12.6% dat de stam **intermediair gevoelig was en 5.4% dat ze gevoelig was.** Voor aztreonam antwoordden **42.8% van de laboratoria "I" en 54.8% "R"**; slechts 3 laboratoria (2.4%) beschouwden de stam als gevoelig. Net als bij stam M/7295 waren deze resultaten **onafhankelijk van de gebruikte techniek.** Opvallend was dat 2 laboratoria de stam als resistent tegen colistine rapporteerden.

De metallo- β -lactamasen werden uitvoerig besproken in het begeleidende commentaar dat gepubliceerd werd in het globaal rapport 2007/2 (genetica, resistentiepatronen, detectiemechanismen, prevalentie). De 2 rondgestuurde stammen vertoonden een multi-resistent profiel met resistentie tegen alle β -lactams, evenals tegen de aminoglycosiden en de fluorochinolonen (niet getest in deze evaluatie); dit is typisch voor een verworven resistentiemechanisme van het MBL type.

Er werd eveneens nader ingegaan op het gegeven dat stam M/7298 een "borderline"-resistentie vertoonde tegen de associatie piperacilline-tazobactam (MIC= 128/4 μ g/ml). **Ongeveer één derde van de gebruikers van VITEK2 of VITEK2 compact hebben deze stam in het « ruwe » resultaat als gevoelig (MIC= 64 μ g/ml) beschouwd**

voor dit antibioticum terwijl de overgrote meerderheid van de laboratoria die de diskdiffusie methode gebruikten (papier schijfjes of ROSCO[®] tabletten) deze stam als resistent beschouwd hebben. Belangrijk in deze context is dat de CLSI enkel een onderscheid maakt tussen gevoelige (MIC \leq 64/4 μ g/ml) en resistente stammen (MIC \geq 128/4 μ g/ml) en er geen intermediaire categorie bestaat. Eveneens is het zo dat de natuurlijke gevoeligheid van *P. aeruginosa* voor antibiotica (met name de β -lactams) vaak dicht bij de vastgelegde drempelwaarden ligt, zodat methodologische variaties (sterkte van het inoculum, incubatieduur, kweek op vaste bodem versus kweek in vloeibare bodem) het uiteindelijke resultaat kunnen beïnvloeden. Verschillende recente vergelijkende studies hebben aangetoond dat de automatische systemen een relatief hoog aantal vals gevoelige resultaten opleverden voor *P. aeruginosa*. Het lijkt dan ook vast te staan dat er een belangrijk risico op fouten bestaat bij de resultaten van de antibiogrammen van *P. aeruginosa* voor het geheel van de β -lactams en dat de interpretatieve algoritmen van automaten voor deze antibiotica herzien moeten worden.

Bijgevolg is het sterk aangeraden de resultaten van de antibiogrammen van deze automaten voor de β -lactams bij *P. aeruginosa* met de grootste voorzichtigheid te benaderen en ze te bevestigen met een andere methode (diskdiffusie, MIC met E test).

Contact met bioMérieux leerde dat de firma actief deze vraag bestudeert en bezig is met een nieuwe ontwikkeling van deze molecule teneinde de performanties van de VITEK systemen te verbeteren.

Voor colistine (polymyxine E) geldt dat in geval van therapeutisch gebruik (behandeling van ernstige infecties door multi-resistente stammen) het noodzakelijk is de gevoeligheid te controleren door bepaling van de MIC (door microdilutie of E-test). De concentraties en kritische diameters variëren naargelang het land:

Verenigde Staten (CLSI) : gevoelig MIC \leq 2 μ g/ml en resistent CMI \geq 8 μ g/ml

Frankrijk (CA-SFM): gevoelig MIC \leq 2 μ g/ml en resistent CMI $>$ 2 μ g/ml

Onderstaande tabellen verschenen in het globaal rapport 2007/2.

Tabel 1.2.3. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/7295 (*P. aeruginosa*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	I	R	*
Ticarcilline	R	71	-	-	71	-
Piperacilline-tazobactam	R	166	1	3	162	-
Ceftazidime	R	179	-	-	179	-
Cefepime	R	161	-	-	161	-
Aztreonam	I	126	14	72	39	1 ³
Meropenem	R	162	-	-	162	-
Imipenem ¹	R	10	-	-	10	-
Colistine	S	129	123	2	3	1 ⁴
Polymyxine ²	S	9	9	-	-	-

¹ Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor imipenem in plaats van voor meropenem.

² Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor polymyxine in plaats van voor colistine.

³ Eén laboratorium antwoordde wel diameter, ruw en expert resultaat (telkens "I") maar geen finaal resultaat voor aztreonam.

⁴ Eén laboratorium antwoordde wel diameter, ruw en expert resultaat (telkens "S") maar geen finaal resultaat voor colistine.

Tabel 1.2.4. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/7298 (*P. aeruginosa*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	I	R	*
Ticarcilline	R	70	-	-	70	-
Piperacilline-tazobactam	R	166	9	21	135	1 ³
Ceftazidime	R	179	1	-	178	-
Cefepime	R	161	1	-	158	2 ⁴
Aztreonam	R	126	3	54	69	-
Meropenem	R	162	-	-	161	1 ⁵
Imipenem ¹	R	10	-	-	10	-
Colistine	S	129	125	1	2	1 ⁶
Polymyxine ²	S	8	7	-	1	-

¹ Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor imipenem in plaats van voor meropenem.

² Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor polymyxine in plaats van voor colistine.

³ Eén laboratorium antwoordde wel diameter en ruw resultaat (telkens "S") maar geen finaal resultaat voor piperacilline-tazobactam.

⁴ Twee laboratoria antwoordden wel diameter maar geen kwalitatieve interpretatie voor cefepime.

- ⁵ Eén laboratorium antwoordde wel diameter maar geen kwalitatieve interpretatie voor meropenem.
- ⁶ Eén laboratorium antwoordde wel diameter, ruw en expert resultaat (telkens "S") maar geen finaal resultaat voor colistine.

1.2.4. *Staphylococcus aureus* M/7758

Deze stam was een **MSSA** die evenwel **resistentie tegen de chinolones** vertoonde.

Alle laboratoria hebben correct de resistentie tegen penicilline en de gevoeligheid voor oxacilline geantwoord. 179/180 labo's hebben correct de resistentie tegen de macroliden geantwoord. 74% van de labo's hebben correct de resistentie (I+R) tegen clindamycine geantwoord en 26% hebben de stam foutief als gevoelig geantwoord. Alle laboratoria hebben correct de resistentie tegen de chinolones geantwoord.

Het commentaar benadrukte dat stam M/7758 een *S. aureus* was met een resistentieprofiel dat men gewoonlijk terugvindt bij MRSA. Het belang van deze stam was dus vooral om **de aandacht van de laboratoria te vestigen op het mogelijk multiresistente karakter van een MSSA** en niet zozeer om de gevoeligheidsbepaling voor oxacilline bij een *S. aureus* te evalueren.

De bepaling van de gevoeligheid voor oxacilline stelde geen enkel probleem. Het sterk verspreide gebruik van cefoxitine, waarvan de grotere gevoeligheid in de bepaling van resistentie tegen de penicillinase-resistente penicillines gekend is, is conform met de aanbevelingen van de CLSI.

Er werd eveneens herhaald dat de bodems die gebruikt worden om MRSA op te sporen op monsters afgenomen met de wissers die voor screening gebruikt worden, niet de methode vormen om de resistentie tegen oxacilline bij *S. aureus* te bepalen en hiervoor niet mogen gebruikt worden.

Voor wat de MLS betreft, werd er vastgesteld dat 46/179 (25%) laboratoria die de resistentie tegen de macroliden correct gedetecteerd hebben, de gevoeligheid voor clindamycine niet gewijzigd hebben. Dit illustreert duidelijk het **gebrek aan duidelijke aanbevelingen hieromtrent**. Zoals Dr. Olivier Denis van het Belgische referentiecentrum voor de MRSA preciseert, zijn de aanbevelingen van de verschillende organismen die richtlijnen over antibiogrammen verstrekken (CLSI, CA-SFM) niet zo categoriek om voor stammen die een induceerbaar MLSb fenotype vertonen, clindamycine als "R" te antwoorden. De **Amerikanen raden aan om clindamycine als R te antwoorden maar er een commentaar aan toe te voegen** dat aangeeft dat in sommige klinische omstandigheden clindamycine gebruikt kan worden. De **Fransen raden niet aan om systematisch te corrigeren**. De **microbioloog moet dus zeker de clinicus waarschuwen over het risico van therapiefalen** in bepaalde klinische situaties met een verhoogd inoculum, in welbepaalde klinische sites voor bemonstering (o.a. bij mediastinitis, respiratoire infecties, ...).

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2007/3.

Tabel 1.2.5.: Resultaten van het antibiogram voor staal M/7758 (*Staphylococcus aureus*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	I	R
Penicilline	R	176	-	-	176
Oxacilline	S	154	154	-	-
Methicilline	S	10	10	-	-
Cefoxitine	S	128	128	-	-
Erythromycine	R	178	1	-	177
Clarithromycine ¹	R	2	-	-	2
Clindamycine	R	180	46	13	121
Chinolones					
Ciprofloxacin	R	99	-	-	99
Levofloxacin	R	43	-	-	43
Moxifloxacin	R	17	-	-	17
Norfloxacin	R	15	-	1	14
Ofloxacin	R	17	-	-	17
Oxolinezuur	R	1	-	-	1
"Chinolone" ²	R	13	-	-	13

¹ Een aantal laboratoria bepaalde clarithromycine in plaats van erythromycine.

² Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

1.2.5. *Klebsiella pneumoniae* M/7759

De stam die werd rondgestuurd was een *Klebsiella pneumoniae* met een plasmidair ampC (DHA1) én een SHV 11 β -lactamase. De aanwezigheid van deze beide β -lactamases werd met moleculaire technieken bewezen.

In het begeleidend commentaar werd tevens een **eenvoudige methode** beschreven voor het opsporen van een ampC β -lactamase, de ampC disk test: op een met tris-EDTA geïmpregneerd blanco schijfje wordt een kolonie van de te onderzoeken stam aangebracht en dit geheel wordt naast een cefoxitineschijfje geplaatst op een Müller-Hinton bodem die met een cefoxitine-gevoelige *E. coli* beënt is. Door de EDTA wordt de wand van de onderzochte kiem permeabel waardoor het ampC β -lactamase uit de te onderzoeken stam kan diffunderen in de omgeving en de *E. coli* toelaat te groeien in aanwezigheid van cefoxitine. Visueel verkrijgt men een afplatting tot indeuking van de gevoeligheidszone voor cefoxitine van de onderliggende *E. coli* bij een ampC positieve stam.

Dit commentaar benadrukte eveneens dat **gevoeligheidsbepalingen steeds moeilijker te interpreteren worden** nu er meer en meer data beschikbaar zijn over resistentie mechanismen. Niet alle mechanismen kunnen in de routine steeds worden opgespoord en daarom suggereren sommige auteurs dan ook om aan de hand van in vitro gegevens voor bepaalde antibiotica gevoeligheden voor andere antibiotica te voorspellen of te interpreteren. Voor **ESBL producerende Enterobacteriaceae** (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus*) is er ondertussen wel voldoende evidentie die aantoont dat **de 3e en 4e generatie cefalosporines beter niet gebruikt worden** ondanks -soms- in vitro gevoeligheid. Voor ampC producerende *K. pneumoniae* zijn de gegevens schaarser en **richtlijnen minder duidelijk** of ontbrekend. Wanneer CLSI guidelines worden gevolgd (86% van de deelnemende laboratoria) moet de stam M7759 wel verder onderzocht worden op de aanwezigheid van ESBL (ceftazidime $\varnothing \leq 22\text{mm}$ en/of MIC ≥ 2). De aangeraden confirmatie testen (E-test, DDST) zullen echter negatief uitvallen en dan wordt er geen aanpassing van de categorieën gesuggereerd. **Meer en meer wordt nochtans aangeraden om bij ernstige infecties deze organismen op dezelfde manier te behandelen als ESBL producerende *K. pneumoniae*.** De definitie van de term "ESBL" is trouwens voortdurend in beweging en door onder andere Livermore wordt geopperd om ook de plasmidaire ampC enzymes te beschouwen als ESBL's. In een recent beschreven epidemie waaruit deze stam afkomstig is werden verhoogde gemiddelde MIC's (gaande tot volledige resistentie) opgemeten voor de meeste cefalosporines. Het mag dus duidelijk zijn dat **deze kiemen niet zomaar als gevoelig voor de 3e (en 4e) generatie cefalosporines kunnen worden**

doorgegeven en dat het laboratorium de clinicus beter verwittigt van mogelijk therapiefalen met deze antibiotica. Misschien zal de MIC bepaling in combinatie met lagere breakpoints in de toekomst de laboratoria een beter houvast geven om een eenvoudiger beleid te voeren. De overgang naar EUCAST breakpoints kan hier dan ook een belangrijke mijlpaal zijn.

Het rondsturen van deze stam ging gepaard met behoorlijk wat moeilijkheden voor de gevoeligheidsbepaling. Niet alleen was dit geen klassiek resistentie patroon voor een *K. pneumoniae* maar bovendien bleek dat bij een aantal deelnemers de stam door de lyofilisatie waarschijnlijk het plasmide was kwijtgespeeld. Echter wanneer de resultaten (doorgegeven MICs of diameters) grondig geanalyseerd worden toont dit aan dat er slechts bij 13 van de 127 (10%) evalueerbare antwoorden sprake kan zijn van een volledig gevoelige *K. pneumoniae*.

Wanneer de resultaten van ceftazidime als type antibioticum voor de 3e generatie cefalosporines worden nagekeken blijkt dat 110/177 labo's de stam gevoelig rapporteren. Voor de labo's die de ruwe data opgegeven hebben blijkt dat 85 van de 127 laboratoria de stam gevoelig vinden en dat (slechts) 22 laboratoria dit resultaat aanpassen naar intermediair of resistent.

In ongeveer de 60% van de laboratoria zal deze kiem dus als gevoelig voor de 3e (en 4^e) generatie cefalosporines worden doorgegeven zonder enig verder commentaar.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2007/3. Om reden van vereenvoudiging hebben wij in deze tabel voor de laboratoria die 2 fenotypes geantwoord hebben, enkel het meest resistente resultaat weerhouden.

Tabel 1.2.6.: Resultaten van het antibiogram van M/7759 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	I	I/R	R	*
Ampicilline	R	175	-	-	-	175	-
Amoxicilline ¹	R	3	-	-	-	3	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	R	182	23	31	-	127	1 ²
Piperacilline-tazobactam		158	88	42	1	25	2 ^{3,4}
Ceftazidime		177	110	25	-	39	3 ^{3,4,5}
Cefotaxime		148	108	15	-	24	1 ³
Cefepime	S	159	140	-	-	17	2 ^{3,4}
Ceftriaxone ⁶		8	5	1	-	2	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	R	114	-	-	-	114	-
Levofloxacin	R	13	-	-	-	13	-
Moxifloxacin	R	1	-	-	-	1	-
Norfloxacin	R	48	-	-	-	48	-
Ofloxacin	R	11	-	-	-	11	-
Oxolinezuur	R	1	-	-	-	1	-
"Chinolone" ⁷	R	16	-	-	-	16	-

¹ Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor amoxicilline in plaats van voor ampicilline.

² Eén laboratorium vermeldde ruw en expert resultaat (beide I) voor amoxicilline-clavulaanzuur maar liet het finale resultaat open.

³ Eén laboratorium vermeldde ruw en expert resultaat (beide telkens S) voor piperacilline-tazobactam, ceftazidime, cefotaxime en cefepime maar liet het finale resultaat open voor deze antibiotica. Dit laboratorium vermeldde in een opmerking: "Vermoeden van AMP resistentie om volgende redenen: 1) cefoxitine resistent op Vitek 2 compact 2) doorgroei in ceftazidimezone 3) inductie van cefotaxime met amoxycavulaanzuur; om deze reden worden de gevoelig gemeten β -lactams niet gerapporteerd; suggestie: meropenem testen."

⁴ Eén laboratorium vermeldde ruw resultaat (telkens S) voor piperacilline-tazobactam, ceftazidime en cefepime maar liet het finale resultaat open voor deze antibiotica.

⁵ Eén laboratorium vermeldde ruw en expert resultaat (beide S) voor ceftazidime maar liet het finale resultaat open.

⁶ Zes laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor ceftriaxone in plaats van voor cefotaxime; één bepaalde de gevoeligheid voor ceftriaxone in plaats van voor cefepime; en één laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor cefotaxime met de diffusietesten en voor ceftriaxone met de Phoenix.

⁷ Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

II. PARASITOLOGIE

Er werden in 2007 drie enquêtes voor de evaluatie van het parasitologisch onderzoek georganiseerd.

2.1. Enquête 1

180 laboratoria namen deel aan deze enquête.

Er werden 2 fecessuspensies in formol verstuurd: P/7254 en P/7255.

Staal P/7254 bevatte cysten van *Giardia lamblia* en van *Entamoeba histolytica*. In een aantal stalen konden ook cysten van *Blastocystis hominis* aangetroffen worden; gezien de geringere hoeveelheid hiervan, was het mogelijk dat deze in een aantal stalen niet aangetoond konden worden.

Giardia lamblia (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd herkend door 178 (98.9%) laboratoria. De cysten werden teruggevonden door 173 deelnemers.

Entamoeba histolytica, *Entamoeba histolytica/dispar* of *Entamoeba dispar* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd herkend door 106 (58.9%) laboratoria. De cysten werden teruggevonden door 104 deelnemers. 11 (6.1%) laboratoria hebben *Entamoeba* species geantwoord. Andere *Entamoeba* spp. dan *dispar* of *histolytica* werden geantwoord door 26 (14.4%) laboratoria.

Blastocystis hominis (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd herkend door 55 (30.6%) laboratoria. De cysten werden teruggevonden door 44 deelnemers.

Staal P/7255 bevatte geen parasieten.

164 (92.1%) laboratoria antwoordden "afwezigheid van parasieten". 14 (7.9%) rapporteerden de aanwezigheid van 1 of meer parasieten.

Dezelfde stalen werden (onder de staalnummers P/6231 en P/6695) reeds verstuurd in de enquête 2006/1. Onderstaande tabel toont de vergelijking van de correcte resultaten van beide enquêtes.

Tabel 2.1. Vergelijking van de correcte resultaten van de enquêtes 2006/1 en 2007/1: de % geven het aantal laboratoria weer dat de betreffende parasiet weergevonden hebben; hoewel *B. hominis* niet in alle stalen terug gevonden kon worden, geven wij het % ervan hier, ter inlichting, toch aan.

N labo's: 189 (P/6231), 189 (P/6695), 180 (P/7254), 178 (P/7255)

	P/6231 (2006/1)	P/7254 (2007/1)
<i>Giardia lamblia</i>	97.9%	98.9%
<i>Entamoeba histolytica</i>	28.6%	37.8%
<i>Entamoeba histolytica /dispar</i>	12.2%	18.9%
<i>Entamoeba dispar</i>	2.1%	2.2%
<i>Entamoeba species</i>	6.3%	6.1%
<i>Blastocystis hominis</i>	26.4%	30.6%
	P/6695 (2006/1)	P/7255 (2007/1)
Afwezigheid van parasieten	86.8%	92.1%

Wat het staal zonder parasieten betreft, zijn er 4 laboratoria die zowel in 2006 als in 2007 meenden parasieten waargenomen te hebben (voor 2 onder hen betrof het beide jaren dezelfde parasiet).

2.2. Enquête 2

180 laboratoria namen deel aan deze enquête.

Er werden 2 fecessuspensies in formol verstuurd: P/7368 en P/7376.

Staal P/7368 bevatte cysten van *Entamoeba coli*.

Entamoeba coli (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd herkend door 176 (97.8%) laboratoria. De cysten werden teruggevonden door 173 deelnemers.

Staal P/7376 bevatte eieren van *Hymenolepis nana*.

Hymenolepis nana (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd herkend door 169 (93.9%) laboratoria. De eieren werden teruggevonden door 153 deelnemers

In het begeleidende commentaar werd nader ingegaan op de verschillende amoeben: deze worden momenteel onderverdeeld in pathogene (*Entamoeba histolytica* en mogelijk *Entamoeba polecki*) en niet-pathogene (*E. coli*, *E. hartmanni*, *E. gingivalis*, *Endolimax nana*, *Iodamoeba butschlii* en *Entamoeba dispar*) species.

Er werd nogmaals vermeld dat het pathogene species *Entamoeba histolytica* morfologisch niet gedifferentieerd kan worden van het niet-pathogene *Entamoeba dispar*. De enige wijze waarop ze van elkaar onderscheiden kunnen worden is met immunologische of moleculaire technieken.

De essentiële microscopische verschillen tussen *E. coli* en *E. histolytica/dispar* werden eveneens aangegeven.

Er werd eveneens herhaald dat het voor elk parasitologisch onderzoek aangeraden is om gedurende 3 opeenvolgende dagen stoelgangstalen te verzamelen want de eieren worden discontinu uitgescheiden. Op elk van deze stalen voert men een rechtstreeks onderzoek met en zonder kleuring met jodium of een andere commerciële kleurstof uit. Vermits de parasieten slechts in geringe mate aanwezig kunnen zijn, is het rechtstreeks onderzoek van een kleine hoeveelheid feces vaak negatief; daarom gebruikt men ook concentratietechnieken (sedimentatie of flotatie), die toelaten om de cysten te concentreren maar de vegetatieve vormen vernietigen.

2.3. Enquête 3

Twee bloeduitstrijkjes, P/7870 en P/7875 werden rondgestuurd.
183 laboratoria namen deel aan deze enquête.

Staal P/7870 bevatte trofozoïeten van *Plasmodium ovale*.
In een aantal preparaten konden ook schizonten waargenomen worden.
De identificatie van de parasieten werd bevestigd met PCR.

Plasmodium ovale (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd teruggevonden door 35 (19.1%) laboratoria. De trofozoïeten werden door alle 35 deelnemers vermeld.

38 (20.8%) laboratoria antwoordden *Plasmodium* species en 11 (6.0%) *Plasmodium* non-falciparum. Tevens vermeldden 43 (23.5%) van de laboratoria een andere dan *P. ovale* non-falciparum *Plasmodium* species.

Vele laboratoria vermeldden wel dat zij dit staal in routine naar het referentiecentrum zouden versturen voor definitieve species-identificatie.

Staal P/7875 bevatte trofozoïeten van *Plasmodium malariae*.
In een aantal preparaten konden ook schizonten waargenomen worden.
De identificatie van de parasieten werd bevestigd met PCR.

Plasmodium malariae (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd teruggevonden door 81 (44.3%) laboratoria. De trofozoïeten werden door 79 deelnemers vermeld.

37 (20.2%) laboratoria antwoordden *Plasmodium* species en 17 (9.3%) *Plasmodium* non-falciparum. Tevens vermeldden 22 (12.0%) van de laboratoria een andere dan *P. malariae* non-falciparum *Plasmodium* species.

Vele laboratoria vermeldden wel dat zij dit staal in routine naar het referentiecentrum zouden versturen voor definitieve species-identificatie.

Het commentaar benadrukte het belang van het onderscheid tussen *P.falciparum* en *P. non-falciparum*. *P.falciparum* onderscheidt zich in termen van complicaties en mortaliteit van de andere species, en vereist een specifieke behandeling met indien nodig ziekenhuisopname. De strategie die vele deelnemers vermelden "identificatie tot op *P.falciparum*/non-falciparum niveau en doorsturen voor species identificatie en confirmatie naar het referentielaboratorium" is in de diagnostische praktijk een correcte en haalbare optie en dient aangemoedigd.

In het commentaar werden tevens enkele sleutels voor de correcte species identificatie aangegeven.

Tevens werd een methode voor het bepalen van de parasitemie, uitgedrukt als % geïnfecteerde rode bloedcellen, vanuit een uitstrijkje, aangeboden.

2.4. Gebruik van de Toolkit

Het aantal antwoorden via geïnformatiseerde weg (Toolkit) bedroeg respectievelijk 36%, 47% en 56% voor elk der 3 enquêtes.

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

III INFECTIEUZE SEROLOGIE

In 2007 werden serologische parameters voor Borrelia, Rubella, HAV, HBV, Syfilis, Brucella en HIV geëvalueerd. Het aantal deelnemers varieerde afhankelijk van de geëvalueerde parameter.

3.1. Borrelia

Het staal S/7075 werd opgestuurd voor de bepaling van anti-Borrelia antistoffen vanuit didactische gronden. Het staal was immers negatief op anti-Borrelia antistoffen (bewezen door leden van het expert comité aan de hand van blottechnieken), maar bevatte anti-anaplasrose antistoffen. Het doel van deze EKE was om na te gaan of er kruisreacties optraden met bepaalde kits voor deze anti-anaplasrose antistoffen en de laboratoria vertrouwd te maken met het bestaan van deze kruisreacties.

Het staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

“Patiënt, die 5 dagen na de extractie van een teek door de behandelende geneesheer in juli 2005 klachten had van koorts (39°C), hoofdpijn en spierpijn.”

140 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 215 testen uit. 75 (53.6%) laboratoria voerden 1 test uit, 57 (40.7%) laboratoria voerden 2 testen uit, 6 (4.3%) laboratoria 3 testen en 2 (1.4%) laboratoria 4 testen.

Laboratoria die 1 test gebruiken sporen de totale antistoffen op; indien zij meer dan 1 test gebruiken, is dit steeds IgG en IgM, eventueel aangevuld met de totale antistoffen. 89% van de laboratoria die de totale antistoffen opzoeken, bepalen de algemene antistoffen, 9% de anti-C6 antistoffen. Voor bepaling van IgG en IgM werden in 95.5% der gevallen niet-blot testen gebruikt en in 4.5% blottesten.

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- totale antistoffen: VIDAS Lyme IgG+IgM (bioMérieux) (85.2%)
- IgG: Liaison Borrelia IgG (Diasorin) (46.3%), Borrelia burgdorferi IgG Elisa (Euroimmun) (19.4%) en Enzygnost Borreliosis (Dade Behring) (13.4%)
- IgM: Liaison Borrelia IgM (Diasorin) (46.3%), Borrelia burgdorferi IgM Elisa (Euroimmun) (19.4%) en Enzygnost Borreliosis (Dade Behring) (16.4%)

Alle laboratoria die de totale antistoffen bepaalden (zowel de algemene als de anti-C6), bekwamen een negatief resultaat.

Voor IgG bekwamen 96.8% van de deelnemers (die deze test uitvoerden) een negatief resultaat met de niet-blot testen; voor de blottesten waren 2 op de 3 resultaten negatief

Voor IgM bekwamen alle deelnemers (die de test uitvoerden) een negatief resultaat zowel met de niet-blot bepalingen als met de blot bepalingen.

Gezien de overgrote meerderheid van de laboratoria negatieve resultaten bekwamen, antwoordden zij dan ook "Afwezigheid van antistoffen" (97.9% van de laboratoria). Alleen de laboratoria die een positief of borderline resultaat bekomen hebben met de niet-blot IgG testen, hebben een mogelijke aanwezigheid van antistoffen gesuggereerd als interpretatie (1.4% van de laboratoria). 0.7% gaf geen interpretatie. Het laboratorium dat een borderline resultaat met de blottest voor de IgG bewam (p30 band), concludeerde "Afwezigheid van antistoffen".

79.5% van de laboratoria die "Afwezigheid van antistoffen" rapporteerden als interpretatie gaven ofwel geen opmerking of vermeldden dat een bevestiging door middel van Western Blot niet noodzakelijk was. 12.4% van de laboratoria die "Afwezigheid van antistoffen" rapporteerden, raadden de afname van een opvolgingsstaal aan; het is echter opvallend dat er geen eensgezindheid bestaat over het tijdsinterval voor die tweede staalname: de voorstellen variëren van 10 dagen tot 6 à 8 weken. Twee van deze laboratoria opperden dat de mogelijkheid van een anaplasrose overwogen dient te worden.

2.1 % van de laboratoria die "Afwezigheid van antistoffen" rapporteerden, raadden toch een bevestiging door Western Blot aan of hadden deze bevestiging zelf uitgevoerd.

In het begeleidende commentaar werd benadrukt dat de specificiteit van de verschillende technieken die door de laboratoria gebruikt werden uitstekend is.

Daarnaast werd in het commentaar nader ingegaan op kliniek, laboratoriumtesten, epidemiologie en behandeling van anaplasrose. We herhalen hier dat momenteel enkel het referentiecentrum van het militair hospitaal de serologie en de PCR voor anaplasrose uitvoert:

Christel Cochez, Paul Heyman en Christian Vandenvelde

Research Laboratory for Vector-borne Diseases, Hôpital Militaire Reine Astrid,
Bruynstr.1, B-1120 Brussels Tel: 02 264 40 44 Fax: 02 264 46 08 E-mail:
paul.heyman@mil.be

3.2. Rubella

Er was 1 gelyofiliseerd plasmamonster, S/6387 waarop antistoffen tegen Rubella bepaald dienden te worden.

Dit staal werd negatief bevonden door sommige referees en borderline positief door andere referees. Dit staal werd verstuurd om te evalueren wat de resultaten voor dit staal waren met de kits beschikbaar op de Belgische markt.

Het staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

"Een jonge vrouw biedt zich aan bij haar huisarts voor een pre-zwangerschapsonderzoek. Zij kan zich niet meer herinneren of zij als kind gevaccineerd werd voor Rubella. De arts neemt een bloedstaal af ter controle van de antistoffen."

171 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 333 testen uit. 12 (7.0%) laboratoria voerden 1 test uit (allen bepaalden de IgG), 157 (91.8%) laboratoria voerden 2 testen uit, 1 (0.6%) laboratorium 3 testen en 1 (0.6%) laboratorium 4 testen. Laboratoria die meer dan 1 test uitvoerden bepaalden nagenoeg steeds IgG en IgM; slechts 2 laboratoria bepaalden ook de totale antistoffen.

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- totale antistoffen: Rubella hemagglutinatiekits (Dade Behring) (100%)
- IgG: AxSYM Rubella IgG (Abbott) (36.3%), VIDAS Rub IgG II (bioMérieux) (18.1%), Access Rubella IgG (Beckman) (14.0%), Liaison Rubella IgG (Diasorin) (14.0%) en ADVIA Centaur Rubella IgG (Siemens) (8.8%)
- IgM: AxSYM Rubella IgM (Abbott) (34.4%), VIDAS Rub IgM II (bioMérieux) (18.8%), Liaison Rubella IgM (Diasorin) (15.0%), Access Rubella IgM (Beckman) (13.1%) en ADVIA Centaur Rubella IgM (Siemens) (8.8%)

De beide laboratoria die de totale antistoffen bepaalden, vonden deze negatief.

De resultaten van de IgG bepalingen waren afhankelijk van de gebruikte kits: 88 (51.8%) laboratoria bekwamen een negatief resultaat, 44 (25.9%) een positief en 38 (22.3%) een borderline.

De positieve resultaten werden bekomen met de kits AxSYM Rubella IgG (36) en ADVIA Centaur Rubella IgG (8).

De borderline resultaten werden bekomen met de kits AxSYM Rubella IgG (25), ADVIA Centaur Rubella IgG (7), VIDIA Rub IgG (3), Access Rubella IgG (1), LXI Rubella IgG (1) en Immulite Rubella IgG (1).

Het blijkt met andere woorden dat 61/62 gebruikers van de kit AxSYM Rubella IgG, en alle gebruikers van de kits ADVIA Centaur Rubella en VIDIA Rub IgG een "niet-negatief" resultaat bekwamen. Het onderzoek van de firma's Abbott en bioMérieux, Siemens bevestigde dat dit staal in functie van de techniek verschillende resultaten kan geven. *Op de problematiek van de stalen met een borderline resultaat werd nader ingegaan in het begeleidende commentaar* (waarvan u verder in dit hoofdstuk een samenvatting vindt).

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de IgM bepaling.

De interpretaties werden uiteraard beïnvloed door de resultaten van de uitgevoerde testen.

Alle laboratoria die een negatief resultaat bekwamen voor de IgG en een aantal van de laboratoria die een borderline resultaat bekwamen, gaven de interpretatie "geen immuniteit", al dan niet vergezeld van een aanvulling (61.4% van de laboratoria). Nagenoeg alle laboratoria die een positief resultaat bekwamen voor de IgG en een aantal met een borderline resultaat gaven een interpretatie die naar "immuniteit" verwijst (31% van de laboratoria) (ingeval van borderline resultaten werden dan wel termen als "zwak", "laag", "grenswaarde" of twijfelachtig toegevoegd). De meeste overige laboratoria die een borderline resultaat bekwamen (6.4%), stelden een eigen interpretatie voor. 1.2% gaf geen interpretatie.

In het begeleidende commentaar werd nader ingegaan op de problematiek van de stalen met borderline resultaten. *Het is gekend dat wanneer verschillende kits gebruikt worden om borderline positieve stalen te testen, de resultaten kunnen variëren van negatief naar positief en dit afhankelijk van de gebruikte test.* De reden hiervoor is de cut off waarde die door de fabrikanten worden gekozen. Sommigen verkiezen een eerder lagere cut off voor hun test en beschouwen hun kit als "gevoeliger" voor de detectie van antistoffen, anderen nemen een ietwat hogere cut off waardoor dergelijke stalen eerder negatief worden gevonden. *Beide opties bieden zowel voor als nadelen.*

Hoewel dergelijke probleem stalen in de routine weinig frequent voorkomen, is het toch belangrijk genoeg om de aandacht erop te vestigen. Het kan aanleiding geven tot verkeerde interpretaties wanneer patiënten zich laten testen in verschillende

laboratoria. *Bij discordante resultaten tussen de laboratoria is het dus noodzakelijk om na te gaan met welke technieken de stalen werden getest.* Een goede kennis van de test eigenschappen van de kit kan in vele gevallen nutteloze bijkomende testen en ongerustheid bij de patiënten vermijden. In het begeleidende commentaar werd eveneens de problematiek van de interpretatie van dergelijke stalen behandeld. *Patiënten waarvan het serologisch resultaat voor IgG antistoffen zich bevindt in de grijze zone, moeten beschouwd worden als niet immuun voor Rubella.* Bij deze patiënten kan een vaccinatie worden aangeraden. Er wordt aangenomen dat een eenmalige toediening van het vaccin voldoende is, en dat het controleren van de serologie na vaccinatie niet echt noodzakelijk is.

3.3. HAV

Er was 1 gelyofiliseerd plasmamonster, S/7225 waarop serologie voor hepatitis A en B diende uitgevoerd te worden.

Het staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

"Een patiënte biedt zich aan op de raadpleging voor reizigersvaccinatie. Er wordt beslist haar immunestatus voor hepatitis A en B te controleren."

De verwachte resultaten en interpretaties waren voor Hepatitis A:

IgG positief, IgM negatief

Immunititeit

175 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 326 testen uit. 24 laboratoria voerden 1 test uit: 20 bepaalden de IgM en 4 de totale antistoffen. 151 laboratoria voerden 2 testen uit: 129 bepaalden totale antistoffen en IgM; 22 IgG en IgM.

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- IgG: Architect HAV IgG (Abbott) (100%) (er is slechts 1 kit voor anti-HAV IgG op de Belgische markt)
- Totale As.: AxSym HAVAB 2.0 (Abbott) (30.1%), VIDAS anti-HAV Total (bioMérieux) (20.3%), Advia Centaur HAV Total (Siemens) (9.8%), Liaison anti-HAV (DiaSorin) (9.0%) en Modular anti-HAV (Roche) (7.5%),
- IgM: AxSym HAVAB M 2.0 (Abbott) (28.7%), VIDAS HAV IgM (bioMérieux) (15.2%), Architect HAV IgM (Abbott) (13.5%), Advia Centaur HAV IgM (Bayer) (8.2%) en Liaison HAV IgM (DiaSorin) (7.0%)

Alle laboratoria die de IgG bepaalden bevonden deze positief.

De totale antistoffen werden door 131 (98.5%) laboratoria positief bevonden. Eén laboratorium bekwam een negatief resultaat en één laboratorium gaf geen kwalitatieve interpretatie.

169 (98.8%) laboratoria die IgM bepaalden, vonden deze negatief. Twee laboratoria gaven geen kwalitatieve interpretatie.

87.4% van de laboratoria gaven de correcte interpretatie "Immunititeit". 5.7% gaven de interpretatie "Geen acute infectie met HAV" en 2.9% "Interpretatie immunestatus niet mogelijk op basis van enkel IgM; complementaire testen (anti-HAV IgG) noodzakelijk". Deze 2 interpretaties werden gegeven door laboratoria die enkel IgM bepaalden. 2.3% antwoordden "Geen immunititeit"; hierbij waren laboratoria die enkel IgM bepaalden maar ook het laboratorium dat het (foutieve) negatieve resultaat voor IgG bekwam en zelfs een laboratorium dat IgG als positief beoordeelde. 1.7% van de laboratoria gaven geen interpretatie.

In het begeleidende commentaar werd benadrukt dat *men IgG- of totale antistoffen bepaalt om immuniteit tegen het hepatitis A virus na te gaan*. In tegenstelling tot bij de hepatitis B virus serologie kan men *niet nagaan of deze immuniteit verkregen is door vaccinatie of een doorgemaakte infectie*. Tevens werd opgemerkt dat hoewel verschillende laboratoria het staal om een eindtiter te verkrijgen verdunnen, *deze eindtiter geen bijkomende informatie biedt*.

3.4. HBV

Er was 1 gelyofiliseerd plasmamonster, S/7225 waarop serologie voor hepatitis A en B diende uitgevoerd te worden.

Het staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

"Een patiënte biedt zich aan op de raadpleging voor reizigersvaccinatie. Er wordt beslist haar immunestatus voor hepatitis A en B te controleren."

De verwachte resultaten en interpretaties waren voor Hepatitis B:

Anti-HBs As positief, HBsAg negatief, anti-HBc As negatief
Immunitet na hepatitis B vaccinatie

In het totaal stuurden 183 laboratoria hun antwoordformulier terug. Ze voerden 713 testen uit :

- HBs Ag: 179 testen
- anti-HBs As: 181 testen
- anti-HBc totale As: 170 testen
- IgM anti-HBc: 8 testen
- HBe Ag: 89 testen
- anti-HBe As: 86 testen

4 laboratoria voerden 1 test uit, 6 laboratoria 2 testen, 80 laboratoria 3 testen, 10 laboratoria 4 testen, 81 laboratoria 5 testen en 2 laboratoria 6 testen.

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- HBsAg: AxSym HBsAg (Abbott) (29.1%), Architect HBsAg (Abbott) (15.1%), VIDAS HBsAg (bioMérieux) (8.9%), ADVIA Centaur HBsAg (Siemens) (7.8%), Modular HBsAg (Roche) (7.3%) en Vitros ECi HBsAg (Ortho Diagnostics) (6.1%)
- Anti HBs As: AxSym AUSAB (Abbott) (28.7%), Architect AUSAB (Abbott) (13.8%), VIDAS anti-HBs Total (bioMérieux) (8.8%), ADVIA Centaur anti-HBs (Siemens) (7.7%), Modular anti-HBs (Roche) (7.2%) en Vitros ECi anti-HBs (Ortho Diagnostics) (6.6%)
- Anti HBc totale As: AxSym CORE (Abbott) (28.2%), Architect CORE (Abbott) (13.5%), VIDAS anti-HBc Total II (bioMérieux) (11.2%) en Modular anti-HBs (Roche) (7.1%)
- Anti HBc IgM: AxSym CORE-M (Abbott) (37.5%), VIDAS HBc IgM II (bioMérieux) (25.0%) en Vitros ECi anti-HBc IgM (Ortho Diagnostics) (25.0%)
- HBeAg: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (40.4%), AxSym HBe 2.0 (Abbott) (24.7%), Architect HBeAg (Abbott) (13.5%) en LIAISON HBeAg (Diasorin) (12.4%)
- Anti HBe As: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (37.2%), AxSym anti-HBe (Abbott) (26.7%), Architect anti-HBe (Abbott) (15.1%) en LIAISON anti-HBe (Diasorin) (12.8%)

De resultaten kunnen als volgt samengevat worden: 99.4% van de deelnemers vonden HBsAg negatief; alle deelnemers vonden anti-HBs As positief, totale anti-HBc As negatief, HBc IgM negatief en HBeAg negatief; 98.8% vonden anti-HBe As negatief.

94.5% van de deelnemers gaven de correcte interpretatie "Immuniteit na hepatitis B vaccinatie". 1 laboratorium (0.5%) verkoos "Immuniteit ten gevolge van een natuurlijke infectie met het hepatitis B virus"; 3.8% beperkten zich tot "Immuniteit" zonder onderscheid te maken tussen beide oorzaken hiervoor. 1.1% gaven geen interpretatie aangezien zij slechts een beperkt aantal testen uitvoerden, wat geen interpretatie toelaat.

In het begeleidende commentaar werd benadrukt dat *men immuniteit tegen het hepatitis B virus nagaat door de aanwezigheid van hepatitis B surface antilichamen te bepalen*. Het resultaat van deze test geeft informatie over de immuniteit van de patiënt zonder meer. *De aan- of afwezigheid van hepatitis B core antilichamen verschaft informatie over het feit of de immuniteit verkregen is door een doorgemaakte infectie (HBsAs +, HBcAs +) dan wel door vaccinatie (HBsAs +, HBcAs -).*

Wanneer een patiënt zich aanbiedt op de raadpleging voor reizigersvaccinatie en het doel is zijn immuniteit na te gaan, is het te verdedigen enkel hepatitis B surface antistoffen te bepalen.

Tevens werd opgemerkt dat hoewel verschillende laboratoria het staal om een eindtiter te verkrijgen verdunnen, *deze eindtiter geen bijkomende informatie biedt*.

3.5. Syfilis

Er was 1 gelyofiliseerd plasmamonster, S/6980 waarop antistoffen tegen *T. pallidum* bepaald dienden te worden.

Het staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

"Het staal dat u ontvangt voor de kwaliteitscontrole werd afgenomen in het kader van een bloeddonatie."

De verwachte interpretatie was: "Antilichamen detecteerbaar: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera."

174 laboratoria namen deel aan deze enquête. Ze voerden 371 testen uit, met name 209 treponemale testen (waarvan 7 enkel de IgM bepalen; de overige 202 bepalen IgG of totale antistoffen) en 162 specifieke niet-treponemale testen.

7 laboratoria voerden 1 test uit, 143 laboratoria voerden 2 testen uit, 18 laboratoria 3 testen en 6 laboratoria 4 testen.

71.4% van de laboratoria die 1 test uitvoerden, gebruikten een treponemale test; van de laboratoria die meer dan 1 test uitvoerden, gebruikten 95.8% de combinatie van niet-treponemale en treponemale testen en 4.2% enkel treponemale testen.

De meeste gebruikte kits waren Serodia TPPA (Fujirebio) (44.2%), Murex Syfacard-R (Abbott) (22.4%), RPR Carbon (Reaction Spinreact) (13.2%), RPR nosticon (bioMérieux) (10.9%), TPHA (Lameris) (9.2%), Macro-Vue RPR Card test (Becton Dickinson) (9.2%) en Trepo-Spot IF (bioMérieux) (7.5%).

(% uitgedrukt in functie van aantal deelnemende laboratoria).

Laboratoria die minstens 1 treponemale test voor IgG of totale antistoffen uitvoerden bekwamen een positief resultaat met alle gebruikte kits. 5 van de 7 laboratoria die de IgM bepaalden bekwamen ook hiervoor een positief resultaat, twee een borderline resultaat.

97.5% van de laboratoria die minstens 1 niet-treponemale test uitvoerden bekwamen een positief resultaat met alle gebruikte kits, 1.9% een negatief resultaat en 0.6 % (1 laboratorium) gaf geen kwalitatieve interpretatie van het kwantitatieve resultaat.

151 (86.8%) laboratoria gaven de (correcte) interpretatie "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een **actieve** (niet-behandelde) infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera".

18 (10.3%) laboratoria verkozen "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een **niet-actieve** infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera".

De overige 2.96% van de laboratoria spraken zich niet uit op basis van de door hen uitgevoerde test(en) maar stelden dat bijkomende test(en) noodzakelijk zijn.

Het begeleidende commentaar benadrukte het **belang van het uitvoeren van zowel treponemale als niet-treponemale testen**; deze laatste hebben hun nut in de opvolging van de therapie: bij een efficiënte therapie zal de antilichaamtiter van de NTT met minstens 2 diluties dalen gedurende het eerste jaar na de behandeling. Het vergelijken van de titers moet gebeuren op gepaarde stalen.

Eveneens werd in dit commentaar gewezen op het **pro-zone fenomeen**: het fenomeen dat kan optreden wanneer serumstalen met hoge serumtiters worden getest; de vals negatieve resultaten die sommige laboratoria met de niet-treponemale testen bekwamen waren meer dan waarschijnlijk hieraan te wijten. Er werd benadrukt dat **laboratoria alert moeten zijn op de mogelijkheid van een pro-zone fenomeen wanneer een serumstaal positief is in de treponemale testen en negatief in de niet treponemale testen (of vice versa)**. Wanneer dat voorkomt is het aangewezen om het serumstaal serieel te verdunnen om aldus een zone-fenomeen uit te sluiten.

Wat ook opviel, was de **enorm grote variatie in titers**. Het is aangewezen dat de laboratoria die extreem afwijken van de mediaan hun procedures nazien. Indien er geen fout in de procedures kan gevonden worden moet er contact worden opgenomen met de betreffende firma die de reden van deze extreme variaties verder moeten onderzoeken.

Onderzoek van de kit met de meeste gebruikers (Serodia TPPA) door de betrokken firma (Fujirebo) leerde dat de spreiding **niet verklaard kan worden door lot-tot-lot variaties**. Ze benadrukken dat de **bijsluiter nauwgezet dient gevolgd te worden en dat extra aandacht dient besteed aan het reinigen van de bij de kit bijgeleverde droppers** (om contaminatie te voorkomen), alsook aan de **nauwkeurigheid bij het uitvoeren van de duploverdunning**. Verder dient de interpretatie van de resultaten eenduidig te gebeuren en is de titer deze bij dewelke nog een duidelijk "matje" te zien is.

De correcte interpretatie van het staal was: "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een **actieve** (niet-behandelde) infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera".

Inderdaad de **aanwezigheid van hoge positieve titers in zowel de treponemale testen als de niet treponemale testen moeten doen vermoeden dat het om een actieve syfilis gaat**. Het is echter **onmogelijk om enkel op basis van de serologische resultaten een recent behandelde syfilis te onderscheiden van een niet behandelde actieve syfilis**. Een positieve serologie suggestief voor een

actieve syfilis moet steeds worden geïnterpreteerd in functie van de klinische en anamnestiche resultaten, alsook met eventuele vroegere serologische resultaten.

3.6 Brucella

Er was 1 gelyofiliseerd plasmamonster, S/1875 waarop antistoffen tegen Brucella bepaald dienden te worden.

Het staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

"Koorts van onbekende oorsprong bij een landbouwer met uitgebreide veestapel."

De verwachte interpretatie was: "Afwezigheid van antistoffen."

95 laboratoria namen deel aan deze enquête. Ze voerden 132 testen uit, met name 74 testen voor bepaling van totale antistoffen, 3 specifieke IgM testen, 3 specifieke IgG testen, 45 Rose Bengal testen en 7 Wright testen.

64 laboratoria voerden 1 test uit, 25 laboratoria voerden 2 testen uit en 6 laboratoria 3 testen.

54.6% van de laboratoria die 1 test uitvoerden, voerden de Rose Bengal test uit en 39.1% bepaalden de totale antistoffen; 45.1% van de laboratoria die de totale antistoffen bepaalden deden dit tegen zowel B. abortus als B. mellitensis en 43.1% enkel tegen B. abortus.

De meest gebruikte kits waren :

- totale AS: Stained Suspension Brucella abortus SS14 (Remel, verdeler Oxoid) (29.7%), Stained Suspension Brucella mellitensis SS15 (Remel, verdeler Oxoid) (24.3%) en Stained Febrile Ag Brucella abortus (Diamondial, verdeler Biotrading) (12.2%)
- Rose Bengal: Brucella Rose Bengal (Biorad) (84.4%)
- Wright: Brucella Wright (Biorad) (100%)

92.2% van de laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de totale antistoffen met alle gebruikte kits; voor de Rose Bengal test bekwamen slechts 42.2% van de laboratoria een negatief resultaat doch 44.4% een positief en 13.3% een borderline. Het merendeel van de vals "niet-negatieve" resultaten werd bekomen met de Brucella Rose Bengal kit van Biorad; de firma heeft het staal onderzocht en kwam tot volgende conclusie:

« Wright en Rose Bengale zijn twee verschillende technieken met verschillende antigenen als oorsprong.

Wij bekwamen met dit serum zeer zwak positieve resultaten met beide technieken.

Wegens de verschillende oorsprong van de antigenen en de positieve resultaten met de 2 technieken kunnen wij aannemen dat een eventueel probleem met dit serum het gevolg kan zijn van de lyofilisatie en de daaropvolgende rehydratatie die in sommige gevallen een beeld van « aggregaten » kan geven dat verward kan worden met een zwak positieve reactie.

Dit resultaat stelt in geen geval de kwaliteit van onze producten in vraag. »

57% van de laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de Wright test.

94 laboratoria gaven een interpretatie; 64.9% hiervan antwoordden "Afwezigheid van antistoffen"; 3.2% vermeldden afwezigheid van bepaalde As (IgM, anti-B. abortus) met noodzaak aan controle (eventueel van andere antistoffen); 25.5% gaven het antwoord "Aanwezigheid van antistoffen"; 6.4% nuanceerden de aanwezigheid van de As (grenswaarde, zwakke titer, twijfelachtig resultaat,...) 52.4% van de laboratoria die "Afwezigheid van antistoffen" antwoordden raadden een bevestiging aan (nieuwe staalname, complementaire testen of beide).

Het commentaar op de enquête heeft de basisprincipes van de diagnose van brucellose herhaald. Voor de diagnose van humane brucellose zijn **de Rose Bengale en ELISA testen het best geschikt om de acute en chronische infecties met een goede gevoeligheid te diagnostiseren.** De diagnose van acute brucellose wordt vergemakkelijkt door **de hoge concentratie aan antistoffen** die in dit stadium van de ziekte voorkomt, terwijl de diagnose van chronische brucellose moeilijker is door de soms lage concentratie aan antistoffen, die met bepaalde serologische technieken dus niet gedetecteerd kunnen worden. Wij raden dus de **ELISA IgG test aan voor de diagnose van chronische brucellosen.** In geval van een **positief resultaat met een agglutinatie test**, is het een goed advies om **hetzelfde staal met een ELISA te testen.** Indien deze **negatief** blijkt te zijn, besluiten wij tot een **vals positieve agglutinatie test**; als hij **positief** is raden wij aan een **hemocultuur af te nemen.** Een **tweede staalname** is enkel gewettigd in geval van **de diagnose van een acute brucellose.** Een tweede staalname 2 à 3 weken na de eerste zou dan de definitieve diagnose moeten leveren.

3.7. HIV

Twee vloeibare plasmamonsters werden rondgestuurd, S/6621 en S/6978.

Monster S/6978 was positief en monster S/6621 was negatief voor anti-HIV antistoffen.

Aan deze enquête namen 181 laboratoria deel.

Op staal S/6621 voerden de laboratoria 204 screeningstesten uit: 158 laboratoria voerden 1 test uit en 23 laboratoria 2 testen. Daarnaast vermelden 13 laboratoria het resultaat van de Ag p24 test die zij bekwamen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit (die anti-HIV As en Ag p24 tegelijkertijd bepaalt) en voerde 1 laboratorium de GENELABS HIV 2.2 BLOT test uit.

Op staal S/6978 voerden de laboratoria 208 screeningstesten uit: 154 laboratoria voerden 1 test uit en 27 laboratoria 2 testen. Daarnaast antwoordden 13 laboratoria het resultaat bekomen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit voor Ag p24 op het staal en bepaalden 3 laboratoria Ag p24 met de VIDAS HIV p24 II kit; tevens hebben 2 laboratoria een confirmatietest uitgevoerd met de GENELABS HIV 2.2 BLOT en 2 met de Inno-LIA HIV Confirmation op dit staal.

De meest gebruikte reagentia waren AxSYM HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (24.5% en 24.0% voor de 2 stalen), VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) (11.8% en 13.5% voor de 2 stalen) en Architect HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (11.3% en 11.1% voor de 2 stalen).

Resultaat van de screeningstesten voor S/6621: het staal werd negatief bevonden door 172 (95.0%) laboratoria. 4 (2.2%) laboratoria bekwamen een positief resultaat en 1 (0.5%) een borderline; 4 laboratoria (2.2%) bekwamen een verschillend resultaat (positief en negatief of borderline en negatief) met 2 verschillende technieken.

De negen "niet-negatieve" resultaten (7 positieve en 2 borderline) werden allen bekomen met de AxSYM HIV-1/2g O kit (Abbott); onderzoek door de firma kon de vals positiviteit niet bevestigen; ze stelden wel vast dat het staal een lichte troebeling vertoonde die verdween na centrifugeren, zoals voorgeschreven in de bijsluiter. Zij geven dan ook volgende aanbeveling:

"According to the Package Insert, if after initial separation, specimens contain clots, red blood cells or particulate matter, **they must be clarified by centrifugation** of at least 10,000 x g for ten minutes prior to testing to avoid inconsistent results. In addition, **each specimen that requires repeat testing or that has been frozen and thawed must be transferred** to a centrifuge tube and **centrifuged** at a Relative Centrifugal Force (RCF) of at least 10,000 x g for ten minutes. Transfer clarified specimen to a sample cup or secondary tube for testing."

De Ag p24 bepaling was negatief bij alle laboratoria die deze test antwoordden.

174 laboratoria zouden het staal in routine niet doorsturen naar een referentielaboratorium; enkel laboratoria die positief of borderline antwoord inleverden, zouden het staal doorsturen.

Resultaat van de screeningstesten voor S/6978: alle laboratoria vonden het staal positief.

De Ag p24 bepalingen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit, gaven het antwoord "ND" "Not Determined" weer; in tegenstelling tot verleden jaar, blijkt het dat **voor de meeste laboratoria duidelijk is dat het antwoord "ND" betekent dat de sterke reactie voor de As de bepaling van het Ag p24 kan belemmeren en een adequate conclusie over Ag p24 onmogelijk is met deze test** en dus andere technieken gebruikt dienen te worden.

De resultaten van de VIDAS HIV p24 II waren allen negatief met een waarde <3 pg/ml.

De resultaten van de GENELABS HIV 2.2 BLOT en de Inno-LIA HIV Confirmation waren positief.

177 laboratoria zouden het staal in routine doorsturen naar een referentielaboratorium; de 4 laboratoria die dit niet zouden doen, zijn (Luxemburgse) laboratoria die zelf de confirmatietesten uitgevoerd hebben of vermelden zelf ARL te zijn.

In het commentaar werd het belang besproken van de **combinatietesten**, die **gelijktijdig de antistoffen** tegen HIV-1 en -2 en het **antigen p24** van HIV-1 opsporen. Dit laat toe een **snellere diagnose** te stellen op het **ogenblik dat de patiënt nog geen antistoffen ontwikkeld heeft**. Van de 181 deelnemende laboratoria hebben er 59 slechts één test gebruikt die enkel de antistoffen opspoort. Men moet er zich van bewust zijn dat deze testen minder gevoelig zijn voor screening, maar het belang hiervan is afhankelijk van de klinische context waarvoor ze gebruikt worden. Deze testen zijn bijvoorbeeld niet aanvaardbaar voor de selectie van orgaandonoren.

Tevens werd in dit commentaar opgemerkt dat een resultaat als **positief of twijfelachtig** beschouwd wordt als dit resultaat **herhaaldelijk** bekomen wordt **met dezelfde kit**. Dit betekent dat elk positief of twijfelachtig resultaat herhaald moet worden met dezelfde test (bij voorkeur in het dubbel), om zeker te zijn van het resultaat. Twee negatieve herhalingstesten wijzen op een negatief resultaat; indien één van de herhalingstesten positief of twijfelachtig is, moet het staal opgestuurd worden voor confirmatie. **Het gebruik van een andere kit kan in geen enkel geval beschouwd als een bevestiging.**

IV REJECTIE VAN NIET-GESCHIKTE STALEN

Ter gelegenheid van de enquête 2007/3 kregen de Belgische laboratoria eveneens een vragenlijst over de behandeling van niet-geschikte stalen. 165 laboratoria hebben deze vragenlijst beantwoord. Acht laboratoria hebben het antwoordformulier niet terug gestuurd.

116 laboratoria (**70.3%**) **beschikken over procedures binnen het laboratorium** voor het verwerpen van niet-geschikte stalen; 46 (27.9%) beschikken hier niet over; bij 2 laboratoria (1.2%) zijn deze procedures in aanmaak.

75 laboratoria (**45.5%**) **beschikken over procedures naar de aanvragers** voor het verwerpen van niet-geschikte stalen; 83 (50.3%) beschikken hier niet over; bij 3 laboratoria (1.8%) zijn deze procedures in aanmaak.

Indien we de antwoorden op deze beide vragen vergelijken stellen we vast dat:

- 73 laboratoria (**44.2%**) **beschikken over procedures zowel binnen het laboratorium als voor de aanvragers**
- 39 laboratoria (23.6%) beschikken wel over procedures binnen het laboratorium maar niet voor de aanvragers
- 1 laboratorium (0.6%) heeft wel procedures voor de aanvragers maar niet binnen het laboratorium
- 44 laboratoria (26.7%) hebben noch procedures binnen het laboratorium, noch voor de aanvragers
- bij 2 laboratoria (1.2%) zijn beide procedures in aanmaak; 1 laboratorium (0.6%) heeft reeds procedures binnen het laboratorium doch deze voor de aanvragers zijn nog in aanmaak

Bij **55.4%** van de laboratoria bestaan de richtlijnen voor de aanvragers zowel elektronisch als op papier, bij 23.0% enkel op papier en bij 16.2% enkel elektronisch.

Zelfs als er geen formele procedures bestaan voor het verwerpen van niet-geschikte stalen, blijken de meeste laboratoria toch (sommige) **niet-geschikte stalen te verwerpen**. **53.5%** van de laboratoria **verwittigen bij verwerpen van stalen de aanvrager telefonisch en/of schriftelijk op het rapport**; 28.7% enkel schriftelijk op het rapport en 10.8% enkel telefonisch.

Indien **niet-geschikte stalen** toch **verwerkt** worden, vermelden 149 laboratoria (**90.3%**) op het rapport dat dit resultaat **onder voorbehoud** is.