

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 2009**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE  
VOOR ANALYSEN KLINISCHE BIOLOGIE**

**MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE/PARASITOLOGIE**

**Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website :**

[http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external\\_quality/rapports/\\_nl/rapports\\_annee.htm](http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_nl/rapports_annee.htm)

**WIV/2009/Micro./Sero./Para. 77**

---

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@wiv-isp.be  
Dr. BOEL An : 053/72.47.85 - FAX : 053/72.45.88  
: e-mail : an.boel@olvz-aalst.be  
Dr. CLAEYS Geert : 09/332.36.45 – FAX : 09/332.49.85  
: e-mail : geert.claeys@ugent.be  
Dr. DE BEENHOUWER Hans : 053/72.42.72 – FAX : 053/72.45.88  
: e-mail : hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be  
Dr. DE GHELDRE Yves : 02/340.41.34 – FAX : 02/340.41.79  
: e-mail : yves.degheldre@chirec.be  
Dr. DEDISTE Anne : 02/535.45.42  
: e-mail : anne\_dediste@stpierre-bru.be  
Dr. DELFORGE Marie-Luce : 02/555.34.53 – FAX : 02/555.64.59  
: e-mail : mdelforg@ulb.ac.be  
Dr. LAGROU Katrien : 016/34.70.98 – FAX : 016/34.79.31  
: e-mail : katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be  
Apr. LONTIE Marc : 016/31.01.72 – FAX : 016/31.01.88  
: e-mail : marc.lontie@mchlvwo.be  
Dr. MAGERMAN Koen : 011/30.97.40 – FAX : 011/30.97.50  
: e-mail : koen.magerman@jessazh.be  
Dr. NAESSENS Anne : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15  
: e-mail : anne.naessens@uzbrussel.be  
Dr. PADALKO Elizaveta : 09/332.21.08 – FAX : 09/332.49.85  
: e-mail : elizaveta.padalko@uzgent.be  
Dr. REYNDERS Marijke : 050/45.39.27 – FAX : 050/45.26.19  
: e-mail : marijke.reynders@azsintjan.be  
Dr. VAN ESBROECK Marjan : 03/247.64.37 – FAX : 03/247.64.40  
: e-mail : mvesbroeck@itg.be  
Dr. 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

## I. MICROBIOLOGIE

---

In 2009 werden er 3 enquêtes georganiseerd in het kader van de EKE in de microbiologie. 176 laboratoria namen aan minstens één enquête deel. 1 laboratorium (0.6 %) nam deel aan 1 enquête, 3 (1.7 %) namen deel aan 2 enquêtes en 172 (97.7 %) aan 3 enquêtes. Twee laboratoria stopten hun activiteiten in de loop van het jaar en één schreef zich laattijdig in. De deelname van de laboratoria bedroeg voor de opeenvolgende enquêtes 175, 174 en 174. Men onderscheidt 113 hospitaallaboratoria, 49 privé laboratoria, 5 laboratoria in poliklinieken en 9 andere laboratoria.

### 1.1. Verslag van de identificatie van de culturen

#### 1.1.1. Verdeling van de resultaten per monster.

Er werden 12 stalen onder gevriesdroogde vorm verzonden.

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 2<sup>e</sup> enquête werd een *Granulicatella adjacens* verstuurd vanuit didactische bedoelingen. Tijdens de 3<sup>e</sup> enquête werd een *Vibrio cholerae* eveneens verstuurd vanuit didactische bedoelingen. Deze beide stalen werden dan ook niet in rekening gebracht bij de beoordeling van de laboratoria.

Voor *Pseudallescheria boydii* (huidletsel; enquête 2009/3) werd een identificatie tot op het genusniveau als afdoende beschouwd. Ook het antwoord "schimmel" werd aanvaard op voorwaarde dat de laboratoria die dit antwoord gaven, in routine deze kiem zouden doorsturen voor identificatie.

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

Kiem	% aanvaardbare identificaties
<i>Escherichia coli</i> (hemocultuur)	99.4
<i>Klebsiella oxytoca</i> (hemocultuur)	98.9
<i>Streptococcus pyogenes</i> (sputum)	100.0
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> (urine)	99.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (hemocultuur)	99.4
Afwezigheid van pathogenen (sputum)	88.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (hemocultuur)	98.9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (hemocultuur)	100.0
<i>Staphylococcus aureus</i> (hemocultuur)	100.0
<i>Pseudallescheria boydii</i> <i>Scedosporium apiospermum</i> (huidletsel)	90.2

### 1.1.2. Verdeling van de laboratoria volgens het aantal aanvaardbare identificaties

Elk laboratorium diende 10 identificaties te verwezenlijken. 139 (79.0%) laboratoria hebben alle identificaties correct of aanvaardbaar geantwoord. In het totaal hebben 37 (21.0%) 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 = 176)
0	139 (79.0%)
1	32 (18.2%)
2	5 (2.8%)

Indien het niet-antwoorden van een evaluatiemonster zonder verklaring (laattijdige inschrijving, stoppen van de activiteiten, uitbesteding van een identificatie) 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 = 176)
0	138 (78.4%)
1	32 (18.2%)
2	5 (2.8%)
3	0
4	1 (0.6%)

## 1.2. Evaluatie van de gevoeligheidsbepalingen

De antibiogrammen van 6 kiemen, *Escherichia coli* M/5646, *Klebsiella oxytoca* M/8836, *Pseudomonas aeruginosa* M/8535, *Klebsiella pneumoniae* M/9375, *Staphylococcus aureus* M/7570 en *Pseudomonas aeruginosa* M/9720 werden uitgetest elk tegenover een afzonderlijke reeks antibiotica.

### 1.2.1. *Escherichia coli* M/5646

Deze kiem was drager van een **ESBL**.

In het begeleidende commentaar werden deze en andere ESBL besproken.

Samengevat zijn **ESBLs  $\beta$ -lactamasen** waarvan a. **het werkings-spectrum uitgebreid is naar de extended-spectrum  $\beta$ -lactams** (3<sup>de</sup> en 4<sup>de</sup> generatie-cefalosporines, aztreonam), b. **het coderend gen aanwezig is op een plasmide** en c. **de activiteit geneutraliseerd wordt door een  $\beta$ -lactamase-remmer**.

De meeste ESBLs zijn afgeleid van TEM- en SHV-  $\beta$ -lactamasen. Ondertussen is de definitie van ESBL ruimer.

Sinds enkele jaren is een **nieuwe groep ESBLs** te voorschijn gekomen, die in een aantal aspecten anders zijn dan de TEM- en SHV-ESBL's, namelijk de **CTX-M ESBLs**.

Een eerste kenmerk is het **resistentie-profiel**: door de specifieke moleculaire structuur zorgen ze voor een **duidelijker resistentie voor cefotaxim/ceftriaxone dan voor ceftazidime** (soms ook aztreonam); zonder expert-regels zou men ze vaak ceftazidime gevoelig beschouwen.

Een tweede kenmerk is de **epidemiologie** van deze op plasmide gecodeerde enzymes: ze worden **veel meer bij *E.coli* gevonden dan in de andere species** (*K.pneumoniae* en *E.aerogenes* waren de frequentste TEM- en SHV producers) en de producers zijn veel minder aan ziekenhuis en verzorgingsinstellingen gebonden. CTX-M *E.coli* 's kunnen worden gevonden bij de 'gewone' bevolking; in sommige regio's vond men reeds 5 % dragerschap, en bij pluimvee en andere dieren.

ESBLs worden vermoed door de **combinatie van volgende kenmerken: verminderde gevoeligheid voor extended-spectrum  $\beta$ -lactams en (partiële tot volledige) neutralisatie door  $\beta$ -lactamase-inhibitoren.**

De **opsporing** gebeurt in **1 of in 2 stappen** en men maakt gebruik van : **verhoogde MIC voor bepaalde  $\beta$ -lactams**, zonder dat ze noodzakelijk in het niet-gevoelig gebied komen te liggen (**screening**), **EN de synergistische activiteit van clavulaanzuur met de extended-spectrum  $\beta$ -lactams (bevestiging)** : cefotaxim, ceftazidime, aztreonam of cefepime, worden getest met of zonder clavulaanzuur : MIC wordt bepaald en vergeleken met en zonder aanwezigheid van de remmer, remmingszones worden vergeleken rond disks met en zonder clavulaanzuur, of men zoekt naar 'champagnekurken, spookzones ..' tussen disks met het cefalosporine en een disk met amoxyxilline-clavulaanzuur.

**EUCAST** is het initiatief voor het in gebruik nemen van gemeenschappelijke breekpunten voor gans Europa. De breekpunten zijn inmiddels gekend.

De **nieuwe breekpunten steunen op farmakodynamische realiteiten**, en voor veel antibiotica zullen deze **lager liggen** dan nu. Er is herhaaldelijk gezegd dat het verlagen van de breekpunten het opsporen van ESBLs (en het gebruik van andere expertregels) overbodig maken. Maar we kunnen in de tabellen toch lezen : ' Sommige labo's kunnen verkiezen ESBLs op te sporen. Bij de expertregels kan men dan lezen : bij een positief resultaat moet een S-resultaat worden veranderd naar I, en een I-resultaat naar R (sic!).

Cfr. eveneens het commentaar over *Klebsiella oxytoca* M/8836 betreffende expertregels en de slotconclusie.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globale rapport 2009/1.

Tabel 1.2.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/5646 (*E. coli*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Amoxicilline	R	81	-	-	81	-
Ampicilline <sup>1</sup>	R	57	-	-	57	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	R	173	2	49	121	1 <sup>5</sup>
Piperacilline-tazobactam	R	159	88 <sup>6</sup>	20 <sup>7</sup>	50 <sup>8</sup>	1 <sup>9</sup>
Ceftazidime	R	171	9	41	121	-
Ceftriaxone	R	70	-	-	70	-
Cefotaxime <sup>2</sup>	R	26	-	-	26	-
Cefepime <sup>3</sup>	R	3	-	-	3	-
Gentamicine	R	162	1	-	160	1 <sup>10</sup>
Amikacine	S	170 <sup>11</sup>	164	2	4	-
Chinolone						
Ciprofloxacin	R	147	-	-	147	-
Levofloxacin	R	21	-	-	21	-
Moxifloxacin	R	1	-	-	1	-
Norfloxacin	R	7	-	-	7	-
Ofloxacin	R	12	-	-	12	-
"Chinolone" <sup>4</sup>	R	2	-	-	2	-

1 Een aantal laboratoria hebben de gevoeligheid voor ampicilline bepaald i.p.v. voor amoxicilline.

2 Een aantal laboratoria hebben de gevoeligheid voor cefotaxime bepaald i.p.v. voor ceftriaxone

3 Een aantal laboratoria hebben de gevoeligheid voor cefepime bepaald i.p.v. voor ceftriaxone

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

5 Eén laboratorium gaf wel het ruwe resultaat ("I") door maar liet het finale resultaat open.

6 Twee laboratoria gaven hierbij een opmerking:

- maar te bewaken want ESBL+, beter meropenem geven
- niet aangeraden

7 Eén laboratorium gaf hierbij een opmerking: "CLSI geeft geen richtlijnen voor  $\beta$ -lactam/inhibitor bij ESBL. Eucast stelt "remains controversial"—dit zou naar arts toe gerapporteerd dienen te worden".

8 Twee laboratoria gaven hierbij een opmerking: "Volgens een aantal recente publicaties kan ook dit antibioticum bij systemische infecties een gunstige klinische respons opleveren".

9 Eén laboratorium gaf wel het ruwe resultaat ("S") door maar liet het finale resultaat open.

10 Eén laboratorium gaf wel het ruwe en expert resultaat ("R") door maar liet het finale resultaat open.

11 Eén laboratorium gaf hierbij een opmerking: "Want netilmycine is gevoelig".

### 1.2.2. *Klebsiella oxytoca* M/8836

Deze kiem was een **K1 hyperproducer**.

In het begeleidende commentaar werden deze hyperproducers besproken.

**Hyperproducerende** mutanten bij de enterobacteriaceae ontstaan frequent bij de klassieke 'induceerbare' soorten (*Enterobacter spp.* vooral, maar ook *Morganella*, *Citrobacter*, *Serratia...*), maar in geringere mate ook bij *E.coli* en *K.oxytoca*, en bijna nooit bij *Proteus mirabilis*, *Salmonella*. Bij al deze mutaties zien we een verminderde gevoeligheid voor  $\beta$ -lactam-antibiotica.

Of er synergie kan worden vastgesteld met  $\beta$ -lactamase-remmers hangt natuurlijk af van de natuur van het chromosomaal  $\beta$ -lactamase: bij clavulaanzuurgevoelige enzymes krijgen we dan een (vals +) ESBL profiel; bij clavulaanzuur-resistente is er logischerwijze geen synergie (ESBL testen zijn negatief) en we spreken van een amp-C profiel. Een voorbeeld van laatstgenoemde mechanisme vindt men bij hyperproducerende *E.coli*-stammen. Het meest duidelijke voorbeeld van het eerstgenoemde mechanisme vinden we in *K.oxytoca* hyperproducers: het aanwezige enzyme is een **K1- of KOXY-enzyme, dubbele-disk-testen zijn soms positief (maar niet voor ceftazidime), maar ceftazidime is opvallend duidelijk gevoelig en piperacilline/tazobactam typisch resistent.**

Er zijn andere, meer zeldzame enterobacteriaceae, met dergelijke vals positieve ESBL-profielen. Bij deze fenotypes moet men de ESBL regels niet toepassen, kan men dus de ruwe antibiogram-data in principe onveranderd gebruiken en rapporteren.

Men moet dus meer en meer **expert zijn**, of een **expertsysteem** gebruiken om succes van antibiotherapie op basis van het antibiogram te voorspellen. Een deel van deze expertregels zijn aanwijzingen voor mogelijke klinische resistentie-problemen die kunnen optreden, hoewel de gebruikte antibiogramtechniek en breekpunten de stam als gevoelig bestempelen. Een probleem is dat er heel wat regels bestaan, maar dat die verschillend worden ondersteund naargelang de autoriteit, de bron, de 'school'.

Nauw verwant aan de expert-regels strictu sensu zijn antibiogram-technieken die bedoeld zijn om resistentie op te sporen met technieken die afwijken van de basistechniek. Voorbeelden zijn: het gebruik van oxa-1 of cefoxitine schijfjes voor detectie van methicilline resistentie, dubbele disk technieken, vancomycine-screen bodems,...

#### Samengevat :

**Resistentie** of het voorspellen van mogelijke falen van antibiotherapie **steunt op :**

- **met klassieke technieken vastgestelde resistentie**
- **door alle of de meeste instanties aanbevolen expert-regels**
- **andere expert-regels die veel minder universeel zijn**

Er blijft een belangrijke maar moeilijke taak voor de microbioloog om met te behandelende artsen hierover op een adequate manier te communiceren (aanpassen ruwe rapporten, toevoegen commentaren (al dan niet automatisch via het LIS) en/of telefonisch contacteren). Het gebruik van Beta-lactam antibiotica op basis van gevoeligheidsbepalingen in het labo blijft geen sinecure.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globale rapport 2009/1.

Tabel 1.2.2. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/8836 (*Klebsiella oxytoca*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Amoxicilline	R	81	-	-	81	-
Ampicilline <sup>1</sup>	R	57	-	-	57	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	R	174	2	18	153	1 <sup>5</sup>
Piperacilline-tazobactam	R	159	-	-	158	1 <sup>6</sup>
Ceftazidime	S	171	145	3	23	-
Ceftriaxone	I	67	11	18	38	-
Cefotaxime <sup>2</sup>	S	28	25	2	1	-
Cefepime <sup>3</sup>	S	2	1	-	1	-
Gentamicine	S	161	157	2	1	1 <sup>7</sup>
Amikacine	S	171	170	1	-	-
Chinolone						
Ciprofloxacin	I/R	146	5	27	114	-
Levofloxacin	I/R	21	5	13	3	-
Moxifloxacin	I/R	1	-	-	1	-
Norfloxacin	I/R	7	-	1	6	-
Ofloxacin	I/R	12	-	5	7	-
"Chinolone" <sup>4</sup>	I/R	2	1	1	-	-

1. Een aantal laboratoria hebben de gevoeligheid voor ampicilline bepaald i.p.v. voor amoxicilline.
2. Een aantal laboratoria hebben de gevoeligheid voor cefotaxime bepaald i.p.v. voor ceftriaxone
3. Een aantal laboratoria hebben de gevoeligheid voor cefepime bepaald i.p.v. voor ceftriaxone
4. Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.
5. Eén laboratorium gaf wel het ruwe en expert resultaat ("R") door maar liet het finale resultaat open.
6. Eén laboratorium gaf wel het ruwe en expert resultaat ("R") door maar liet het finale resultaat open.
7. Eén laboratorium gaf wel het ruwe en expert resultaat ("S") door maar liet het finale resultaat open.

### 1.2.3. *Pseudomonas aeruginosa* M/8535

Dit betrof een gevoelige kiem: het antibiogram stelde dan ook weinig probleem voor de overgrote meerderheid van de laboratoria. Desalniettemin bekwamen enkele laboratoria een intermediair of resistent resultaat voor sommige antibiotica.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2009/2.

Tabel 1.2.3. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/8535 (*P. aeruginosa*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Piperacilline-tazobactam	S	159	145	11	1	2 <sup>1</sup>
Ceftazidime	S	171	170	-	1	-
Meropenem	S	157	157	-	-	-
Imipenem	S	86	86	-	-	-
Amikacine	S	170	170	-	-	-
Gentamicine	S	158	155	1	-	2 <sup>2</sup>
Tobramycine	S	116	116	-	-	-
Chinolone						
Ciprofloxacin	S	139	139	-	-	-
Levofloxacin	S	15	15	-	-	-
Moxifloxacin	S	1	1	-	-	-
Norfloxacin	S	4	3	-	1	-
Ofloxacin	S	10	10	-	-	-
Pefloxacin	S	1	1	-	-	-
"Chinolone" <sup>3</sup>	S	9	9	-	-	-

1 Twee laboratoria lieten het finale antwoord open voor dit antibioticum. Het ene antwoordde wel ruw (S) en expert (I) resultaat (methode Vitek 2 compact); het andere antwoordde ruw en expert resultaat (beide S) (Vitek 2) maar gaf de opmerking dat het niet over schijfjes beschikte om het antibiogram manueel te testen.

2 Twee laboratoria lieten het finale antwoord open voor dit antibioticum. Het ene antwoordde wel ruw en expert resultaat (beide S) (Vitek 2 compact); het andere antwoordde ruw resultaat (S) (papieren schijfjes).

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



#### 1.2.4. *Klebsiella pneumoniae* M/9375

Deze stam was een multi-resistente *Klebsiella pneumoniae* die resistent was aan alle antibiotica met inbegrip van de carbapenems, maar met uitzondering van colistine en gentamicine. Deze stam produceerde een carbapenemase van het type metallo- $\beta$ -lactamase van het type VIM-1 (Verona IMipenemase).

Deze stam vertoonde het klassieke multi-resistentie profiel voor dit type bacterie dat alle  $\beta$ -lactams, de aminoglycosiden (met uitzondering van gentamicine) en de fluorochinolonen omvat. Er werd een low-level resistentie tegen meropenem vastgesteld (CMI = 4  $\mu\text{g/ml}$ , intermediair volgens EUCAST maar nog gevoelig en op de grens van de gevoeligheid volgens de laatste aanbevelingen van de CLSI [M100-S19]), maar de stam was resistent tegen imipenem (CMI=16  $\mu\text{g/ml}$ ). Enkel colimycine, tigecycline en aztreonam behielden nog een zekere gevoeligheid.

Een groot aantal laboratoria hebben het multi-resistente karakter van de stam onderlijnd en hebben de aanwezigheid van een carbapenemase herkend of vermoed aangezien zij suggereerden de stam door te sturen naar een referentielaboratorium om het resistentiemechanisme te bevestigen.

In het commentaar werd benadrukt dat de **gevoeligheid voor colistine moet getest worden met een MIC-bepaling via E-test, automaat of microdilutie want de disk-diffusiemethode is weinig betrouwbaar** wegens de slechte diffusie van deze molecule in de agar. Het merendeel van de laboratoria die colimycine getest hebben (ongeveer de helft van de laboratoria) hebben correct de stam als gevoelig geantwoord.

Een **screening van de detectie van de productie van een MBL** kan gemakkelijk uitgevoerd worden met behulp van **fenotypische testen die de aanwezigheid van een synergie tussen imipenem en EDTA** (die carbapenemase van het type MBL inhibeert) **opsporen**. Een beschrijving van de verschillende, in België beschikbare, commerciële methoden voor deze screening kan u terugvinden in het globale rapport van de enquête (2009/2).

Er bestaan **geen formele aanbevelingen voor het wijzigen van een ruw resultaat van dergelijke stammen in geval van behouden gevoeligheid voor carbapenems**. Nochtans, rekening houdend met hun epidemisch vermogen en het hoge niveau van complicaties en mortaliteit van de infecties (mortaliteit van 20%) lijkt het **logisch en belangrijk hun productie van VIM carbapenemase te rapporteren** en het potentiële gevaar van het verschijnen van dergelijke stammen in het ziekenhuis te vermelden.

Het is **belangrijk** om de **productie van carbapenemase** van type MBL (of van een ander type, bv. KPC) te bevestigen **voor alle multi-resistente enterobacteriaceae via moleculaire testen**, die in ons land uitgevoerd worden in de laboratoria van verschillende universitaire ziekenhuizen (Hôpital Erasme ULB, Cliniques Universitaires UCL-Mont-Godinne)

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2009/2.

Tabel 1.2.4.: Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/9375 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	I/R	R	*
Meropenem	I	158	22 <sup>1</sup>	68	1	65	2 <sup>2</sup>
Imipenem <sup>3</sup>	(I)	5	-	2	-	3	-
Amikacine	I	170	69	88	-	12	1 <sup>4</sup>
Gentamicine	S	160	158	1	-	1	-
Ciprofloxacine	R	168	-	-	-	168	-
Levofloxacine	R	92	-	-	-	92	-
Ofloxacine <sup>5</sup>	(R)	3	-	-	-	3	-
Colimycine	S	87	82	3	-	1	1 <sup>6</sup>
Polymyxine <sup>7</sup>	(S)	3	3	-	-	-	-

1. Eén laboratorium (gebruiker van de Vitek 2 compact) gaf als opmerking: "S antwoorden na controle met Rosco diffusietest (Ø=21)"
2. Eén laboratorium antwoordde "verminderde carbapenem-gevoeligheid". Een ander antwoordde wel ruw (I) resultaat (Vitek 2 compact) maar liet het finale antwoord open.
3. Een aantal laboratoria hebben de gevoeligheid voor imipenem bepaald i.p.v. voor meropenem.
4. Eén laboratorium antwoordde wel ruw (I) resultaat (Vitek 2 compact) maar liet het finale antwoord open.
5. Een aantal laboratoria hebben de gevoeligheid voor ofloxacine bepaald i.p.v. voor ciprofloxacine en/of levofloxacine.
6. Eén laboratorium gaf wel de diameter, bekomen met de papieren schijfjes (11 mm.), weer maar antwoordde dat er geen CLSI normen bestaan.
7. Een aantal laboratoria hebben de gevoeligheid voor polymyxine bepaald i.p.v. voor colimycine.

### 1.2.5. Staphylococcus aureus M/7570

Deze stam was een MRSA met een heteroresistentie tegen oxacilline die werd verstuurd op didactische gronden. Naast de opmerking dat het een MRSA betrof (door 60 laboratoria toegevoegd aan de identificatie), voorzagen een groot aantal laboratoria hun antwoord van een bijkomende opmerking. Deze opmerkingen werden opgenomen in het globaal rapport van de enquête.

Het begeleidende commentaar benadrukte dat de testen die het referentiecentrum uitvoerde aantonen dat de in de EKE verstuurde stam heteroresistent is (MIC = 12 mg/l). Deze resistentie werd bewezen via PCR, die de aanwezigheid van het *mecA* gen aantoonde.

De moeilijkheden die de detectie van een dergelijke heteroresistentie oplevert werden duidelijk bewezen door de resultaten van de enquête: slechts 106 (61%) laboratoria hebben de low level resistentie tegen oxacilline aangetoond en gerapporteerd. Vijfenvijftig laboratoria (31%) beschouwden de stam als gevoelig, 10 laboratoria bekwamen verschillende resultaten met de verschillende technieken die ze gebruikten en 3 laboratoria gaven geen resultaat voor methicilline/oxacilline. 46% van de Vitek-gebruikers beschouwden de stam als gevoelig voor oxacilline. Daarentegen hebben alle Phoenix-gebruikers de stam correct als resistent gerapporteerd. De laboratoria die de gevoeligheid met behulp van schijfjes getest hebben, hebben de stam als gevoelig geantwoord (zeer ernstige fout) in 61% van de gevallen door gebruik te maken van oxacilline en in 27% door gebruik te maken van cefoxitine.

Het commentaar vermeldde eveneens enkele van de **EUCAST richtlijnen** voor het testen van de gevoeligheid van *S. aureus* voor enkele antibiotica.

In 2010, raden EUCAST en CLSI aan om de **gevoeligheid voor oxacilline te testen met behulp van een cefoxitine-schijfje van 30 µg (resistent als < 22 mm inhibitie) op een Mueller-Hinton bodem (MH) (niet aangerijkt met NaCl), die gedurende 16-20 uur geïncubeerd wordt op 35°C (± 1°C)**. Het gebruik van een **cefoxitine-schijfje is gevoeliger om de heteroresistente *S. aureus* stammen** op te sporen. De automaten testen cefoxitine om de gevoeligheid voor oxacilline te bepalen. De resistentie van deze stammen kan eveneens bevestigd worden door de bepaling van PBP2a via een agglutinatie-test met gesensibiliseerd latex of via PCR voor het *mecA* gen.

EUCAST heeft in 2010 de **kritische concentraties van vancomycine** (resistent als > 2 mg/l) **en teicoplanine** (resistent als > 2 mg/l) gewijzigd.

Tot slot vermeldde het commentaar de 3 bestaande reservoirs van MRSA: de stammen die verspreid zijn in de ziekenhuizen (hospital-associated MRSA, HA-MRSA), de stammen die in de gemeenschap (buiten het hospitaal) voorkomen (community-associated MRSA, CA-MRSA) en de stammen die voorkomen bij fokdieren (livestock-associated MRSA, LA-MRSA). Deze stammen vertonen elk hun eigen epidemiologische en microbiologische kenmerken.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2009/3.

Tabel 1.2.5.: Resultaten van het antibiogram van M/7570 (*Staphylococcus aureus*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Penicilline	R	165	3	1	158	3 <sup>1</sup>
Oxacilline	R	148	52 <sup>2</sup>	1	92 <sup>3</sup>	3 <sup>4</sup>
Methicilline	R	1	-	-	1	-
Cefoxitine <sup>5</sup>	R	128	38 <sup>6</sup>	-	85 <sup>7</sup>	5 <sup>8</sup>
Gentamicine	S	159	157	-	-	2 <sup>9</sup>
Vancomycine	S	171	163 <sup>10</sup>	1 <sup>11</sup>	3	4 <sup>12</sup>
Chinolone						
Ciprofloxacin	R	110	2	-	107	1 <sup>13</sup>
Levofloxacin	R	45	-	-	45	-
Moxifloxacin	R	17	-	-	17	-
Norfloxacin	R	7	-	-	7	-
Ofloxacin	R	9	-	-	9	-
Chinolone <sup>14</sup>	R	6	-	-	6	-

<sup>1</sup> Drie laboratoria gaven geen finaal resultaat:

- 1 laboratorium vermeldde dat het resultaat zou doorgegeven worden in functie van het resultaat van het referentiecentrum, doch dat er een vermoeden was van een MRSA (ruw resultaat penicilline = R)
- 1 laboratorium antwoordt dat het een stam is die een MIC-bepaling vereist (ruw resultaat = I)
- 1 laboratorium geeft wel het ruw en expert resultaat (R) maar liet het finaal resultaat open

<sup>2</sup> Eén laboratorium geeft het antwoord "S" op basis van de Rosco Neosensitabs schijfjes maar vermeldt in een opmerking: "Op MRSA bodem (bioMérieux) aanwezigheid van kolonies die resistent zijn aan oxacilline en limiet voor cefoxitine: BORSA?"

<sup>3</sup> Een aantal laboratoria voorziet het antwoord "R" van een opmerking:

- Resultaat bevestigd door PCR (mecA gen positief)
- Parallel aan de Vitek werd de MRSA select bodem (bioMérieux) ingezet: MRSA +
- Kolonies binnen inhibitiezone (borderline): →antibiogram opnieuw: R
- MIC afgelezen t.h.v. de doorgroeide kolonies (MIC van doorgroeiende kolonie werd opnieuw ingezet en was 16 µg/mL)
- Met doorgroei

<sup>4</sup> Drie laboratoria gaven geen finaal resultaat:

- 1 laboratorium vermeldde dat het resultaat zou doorgegeven worden in functie van het resultaat van het referentiecentrum, doch dat er een vermoeden was van een MRSA (ruw resultaat oxacilline = S)
- 1 laboratorium antwoordt dat het een stam is die een MIC-bepaling vereist (ruw resultaat = S)
- 1 laboratorium geeft wel het ruw resultaat (S) maar liet het finaal resultaat open

<sup>5</sup> Voor de resultaten van de cefoxitine screen op Vitek 2 en Vitek 2 compact hebben we "negatief" als "S" en "positief" als "R" beschouwd

<sup>6</sup> Eén laboratorium geeft het antwoord "S" op basis van de papieren schijfjes maar vermeldt in een opmerking: "Op MRSA bodem (bioMérieux) aanwezigheid van kolonies die resistent zijn aan oxacilline en limiet voor cefoxitine: BORSA?"

<sup>7</sup> Een aantal laboratoria voorziet het antwoord "R" van een opmerking:

- + ingroeiende kolonies
- groei op MRSA bodem van Biorad: →R aan cefoxitine; op AB zone moeilijk te meten: slechts enkele kolonies doorgroeid rond cefoxitine
- Kolonies binnen inhibitiezone (borderline)→antibiogram opnieuw: R
- Elke diameter van de zone rond cefoxitine 30 µg tussen 20 en 24 mm. wordt gecontroleerd. Het is geweten dat MRSA stammen zich binnen deze grenzen kunnen situeren.

<sup>8</sup> Vijf laboratoria gaven geen finaal resultaat:

- 1 laboratorium vermeldde dat het resultaat zou doorgegeven worden in functie van het resultaat van het referentiecentrum, doch dat er een vermoeden was van een MRSA (ruw resultaat cefoxitine = I)
- 1 laboratorium antwoordt dat het een stam is die een MIC-bepaling vereist (ruw resultaat = S)
- 3 laboratoria lieten het finaal resultaat open: één labo met ruw resultaat "R", 1 labo met ruw resultaat "negatief" en 1 met een diameter van 25 mm.

<sup>9</sup> Twee laboratoria gaven geen finaal resultaat:

- 1 laboratorium vermeldde dat het resultaat zou doorgegeven worden in functie van het resultaat van het referentiecentrum, doch dat er een vermoeden was van een MRSA (ruw resultaat gentamicine = S)
- 1 laboratorium geeft wel het ruw resultaat (S) maar liet het finaal resultaat open

<sup>10</sup> Eén laboratorium voorziet het antwoord "S" van een opmerking: "Er worden geen (heteroresistente) VISA's gedetecteerd met de E-test macromethode". Eén laboratorium antwoordde "S" op basis van een extrapolatie: "Inhibitiezone cefoxitine 60 µg (Neosensitabs): >15 mm.: vancomycine S"

<sup>11</sup> Eén laboratorium voorziet het antwoord "I" van een opmerking: "E-test werd uitgevoerd met 2 McFarland en met 0.5 McFarland suspensie op een Mueller-Hinton"

<sup>12</sup> Vier laboratoria gaven geen finaal resultaat:

- 1 laboratorium vermeldde dat het resultaat zou doorgegeven worden in functie van het resultaat van het referentiecentrum, doch dat er een vermoeden was van een MRSA (ruw resultaat vancomycine = S)
- 1 laboratorium antwoordt "E-test voor detectie GISA/hGISA: vancomycine 6 en teicoplanine 3 → doorstuur naar referentiecentrum"
- 2 laboratoria vermelden dat een MIC-bepaling noodzakelijk is.

<sup>13</sup> Eén laboratorium gaf geen finaal resultaat:

- het vermeldde dat het resultaat zou doorgegeven worden in functie van het resultaat van het referentiecentrum, doch dat er een vermoeden was van een MRSA (ruw resultaat ciprofloxacine = R)

<sup>14</sup> Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

### 1.2.6. Pseudomonas aeruginosa M/9720

Dit betrof een kiem, die gevoelig was voor de meeste antibiotica; met bepaalde methoden werd echter een intermediaire gevoeligheid (of zelfs resistentie) vast gesteld voor piperacilline-tazobactam en ceftazidime. Ook meropenem werd door enkele laboratoria als resistent beschouwd.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2009/3.

Tabel 1.2.6.: Resultaten van het antibiogram van M/9720 (*P. aeruginosa*)

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Piperacilline-tazobactam	S/I	163	95 <sup>1</sup>	57 <sup>2</sup>	10	1 <sup>3</sup>
Ceftazidime	S	172	122	40	9	1 <sup>3</sup>
Meropenem	S	160	155	-	4 <sup>4</sup>	1 <sup>3</sup>
Imipenem <sup>5</sup>	S	4	4	-	-	-
Amikacine	S	172	172	-	-	-
Gentamicine	S	159	159	-	-	-
Tobramycine	S	118	118	-	-	-
Chinolone						
Ciprofloxacin	S	153	153	-	-	-
Levofloxacin	S	12	12	-	-	-
Moxifloxacin	S	1	1	-	-	-
Norfloxacin	S	3	2	-	1	-
Ofloxacin	S	7	6	1	-	-
Pefloxacin	S	2	1	1	-	-
Chinolone <sup>6</sup>	S	3	3	-	-	-

<sup>1</sup> Eén laboratorium voorziet het antwoord "S" van een opmerking: "Gezien dilutie voor piperacilline-tazobactam op Vitek: 64, confirmatie gevoeligheid manueel getest (Saegeman et al, Acta Clinica Belgica 2005 60(1): 3-9)."

<sup>2</sup> Twee laboratoria voorzien het antwoord "I" van een opmerking:

- MIC 64 voor piperacilline-tazobactam → manueel antibiogram. Voorkomen van microkolonies binnen de inhibitiezone → wijziging van S in I in afwachting van de EUCAST richtlijnen
- Piperacilline-tazobactam MIC 64. CLSI richtlijnen:  $\leq 64 = S$   $\geq 128 = R$ . Expert systeem maakt er R van. Veiligheidshalve en rekening houdend dat met de EUCAST regels deze MIC waarde R wordt, I behouden.

<sup>3</sup> Eén laboratorium liet de finale resultaten voor deze 3 antibiotica open, maar gaf volgende opmerking: "Als we op hetzelfde staal imipenem testen, stellen we een sterke inductie van de resistentie tegen piperacilline-tazobactam en ceftazidime vast. Als we meropenem testen, stellen we in de inhibitiezone geïsoleerde kolonies vast; als we deze hertesten met hetzelfde antibioticum, vermindert de inhibitiezone van 30 naar 19 mm. Deze 2 resultaten wijzen op een induceerbare resistentie tegen piperacilline-tazobactam en ceftazidime en op een carbapenemase. Als besluit kunnen we het gebruik van deze 3 antibiotica niet aanraden ondanks een schijnbare in vitro gevoeligheid."

<sup>4</sup> Twee laboratoria voorzien het antwoord "R" van een opmerking:

- slechts 1 kolonie doorgroeid rond meropenem: verder AB ingezet vanuit deze kolonie: R aan meropenem
- Aanwezigheid van mutante kolonies resistent tegen meropenem. Afwezigheid van carbapenemases van type VIM en IMP.

<sup>5</sup> Een aantal laboratoria hebben de gevoeligheid voor imipenem bepaald i.p.v. voor meropenem

<sup>6</sup> Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

## II. PARASITOLOGIE

---

Er werden in 2009 drie enquêtes voor de evaluatie van het parasitologisch onderzoek georganiseerd.

### 2.1. Enquête 1

Er werd 1 fecessuspensie in formol verstuurd: P/8444  
170 laboratoria namen deel aan deze enquête.

Staal P/8444 bevatte cysten van *Entamoeba dispar*.

De bevestiging dat het *Entamoeba dispar* betrof (en geen *Entamoeba histolytica*, waarmee het onderscheid niet te maken is op morfologische gronden) werd via PCR geleverd. Antwoorden *Entamoeba histolytica/dispar* worden als correct beschouwd.

*Entamoeba histolytica/dispar* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd geantwoord door 101 (59.4%) laboratoria. De cysten werden teruggevonden door al deze deelnemers. Vier (2.4%) laboratoria antwoordden *Entamoeba dispar*. Het antwoord *Entamoeba histolytica* werd door 41 (24.1%) laboratoria ingestuurd.

Ter gelegenheid van deze enquête werd eveneens de vraag gesteld welke de diameter van de betrokken kiem was, en welke techniek de laboratoria gebruikt hadden om deze te meten. 136 laboratoria antwoordden de diameter gemeten te hebben. 134 gebruikten één methode, één gebruikte 2 methoden (oculaire en digitale micrometer) en één laboratorium liet het antwoord op deze vraag open. 133 van de laboratoria met één methode gebruikten een oculaire micrometer; één laboratorium bepaalde de diameter door "vergelijking met de grootte van een rode bloedcel en een witte bloedcel".

Het begeleidende commentaar ging nader in op de differentiatie tussen *E. histolytica* (pathogeen) en *E. dispar* (niet-pathogeen) en op het belang van de meting van de diameter. De WHO schreef **richtlijnen** uit met het oog op een verbetering van de diagnostiek en behandeling waarvan de belangrijkste zijn:

- bij het vinden van cysten moet het **laboratorium** als **antwoord** geven: **cysten van *E. histolytica/dispar***. Enkel bijkomend onderzoek kan het onderscheid tussen beide maken.
- Bij patiënten met cysten van *E. dispar* in de stoelgang moet men op zoek gaan naar een andere oorzaak van de abdominale klachten.

Elk laboratorium in België wordt uitgenodigd **de stalen waarin cysten van *E. histolytica/dispar* gevonden werden, naar het ITG te sturen** voor verdere differentiatie tussen beide species. Dit onderzoek is kosteloos. Er wordt gevraagd uw eigen microscopische bevindingen op het aanvraagformulier te vermelden en **voldoende, niet-gefixeerde feces** mee te sturen opdat een rechtstreeks onderzoek, verrijking en antigenetectie kan gebeuren.

Cysten van *E. histolytica/dispar* zijn rond tot ovaal en 10-20 µm groot. Ze bevatten 1-4 kernen, in praktijk meestal 1-2. Het onderscheid met andere veel voorkomende cysten van protozoa gebeurt enkel (*E. hartmanni*) of gedeeltelijk (*E. coli*) op basis van de grootte van de cysten. Als men weet dat cysten van *E. hartmanni* afmetingen hebben van 5-10 µm en *E. coli* van 10 (15)-35 µm dan begrijpt men onmiddellijk het belang van het **gebruik van een goed micrometer-oculair** of een alternatieve methode om de diameters van de cysten accuraat te meten.

## 2.2. Enquête 2

Er werden 2 fecessuspensies in formol verstuurd: P/8557 en P/9273.

169 laboratoria hebben aan deze enquête deelgenomen.

Staal P/8557 bevatte eieren van *Enterobius vermicularis*.

*Enterobius vermicularis* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd herkend door 152 (89.9%) laboratoria. De eieren werden teruggevonden door 151 (99.3%) deelnemers: 13 deelnemers gaven als evolutiestadium “bevruchte eieren” op, 2 antwoorden “onbevruchte eieren”, 1 “onbevruchte en bevruchte eieren” en 135 hielden het op “eieren” zonder precisering.

Het commentaar op de enquête stelde dat het herkennen van de eitjes doorgaans geen problemen stelt (zoals ook blijkt uit de enquête), maar dat in de klinische praktijk het probleem eerder ligt bij het terugvinden van de eitjes. De productie van de eitjes gebeurt onregelmatig en de eitjes worden niet gemengd met de stoelgang. Onderzoek van feces is dus verre van ideaal voor het diagnosticeren van een infectie met aarswormen. Beter is de **plakbandmethode** (tapetest) uit te voeren waarbij een stukje **doorzichtige celluloseplakband op de perianale huid en nadien op een objectglaasje** wordt gekleefd voor **microscopisch onderzoek**. Idealiter gebeurt dit **'s morgens onmiddellijk na het ontwaken**, voor het wassen en voor de eerste ontlasting. Het herhalen van de tapetest verhoogt de kans op het vinden van de eitjes. Het is ook mogelijk de wormpjes macroscopisch op de stoelgang of op de perianale huid te onderscheiden.

Staal P/9273 bevatte oöcysten van *Isospora belli*.

*Isospora belli* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd herkend door 158 (93.5%) laboratoria. De oöcysten werden teruggevonden door 129 deelnemers.

Dit staal w<sup>2</sup>erd reeds verstuurd in de enquête 2008/2 onder nummer P/8315. Onderstaande tabel toont de vergelijking van de resultaten van beide enquêtes.

Tabel 2.1. Vergelijking van de resultaten voor staal P/8315 (2008/2) en P/9273 (2009/2) (*Isospora belli*)

Enquête	% labo's met resultaat <i>I. belli</i>	% labo's met resultaat <i>I. belli</i> die evolutiestadium oöcyste antwoorden
P/8315	95.3	86.0
P/9273	93.5	81.6



### **2.3. Enquête 3**

Er werden 2 bloeditstrijkjes verstuurd: P/9334 en P/9683.  
182 laboratoria namen deel aan deze enquête:

Staal P/9334 bevatte microfilaria van *Loa loa*.

*Loa loa* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd teruggevonden door 156 (86%) laboratoria. De microfilaria werden door 141 deelnemers vermeld.

Staal P/9683 bevatte trofozoïeten van *Babesia* species .

*Babesia* species (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd teruggevonden door 133 (73%) laboratoria. De trofozoïeten werden door 126 deelnemers vermeld.

Dit staal werd reeds verstuurd in de enquête 2008/1 onder nummer P/8046. Onderstaande tabel toont de vergelijking van de resultaten van beide enquêtes.

Tabel 2.2. Vergelijking van de resultaten voor staal P/8046 (2008/1) en P/9683 (2009/3) (*Babesia* species)

Enquête	% labo's met resultaat <i>Babesia</i> sp.	% labo's met resultaat <i>Babesia</i> sp. die evolutiestadium trofozoïet antwoorden
P/8046	60.7	86.4
P/9683	73.1	92.6

### **2.4. Gebruik van de Toolkit**

Het aantal antwoorden via geïnformatiseerde weg (Toolkit) bedroeg respectievelijk 47%, 56% en 66.5% 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 2009 werden serologische parameters voor HBV, HCV, toxoplasma, borrelia, CMV, EBV en HIV geëvalueerd. Het aantal deelnemers varieerde afhankelijk van de geëvalueerde parameter.

#### **3.1. HBV**

Er werden twee stalen (S/5624 en S/5632) opgestuurd van 2 patiënten met geelzucht. Op deze beide stalen diende de serologie voor zowel HBV als HCV uitgevoerd te worden. Er werd gevraagd om voor elk van beide stalen HBV en HCV samen te interpreteren (cfr. 3.3. Interpretatie van HBV en HCV).

De verwachte resultaten waren:

S/5624:

HBsAg positief  
HBsAs negatief  
HBcAs positief  
HBeAg positief  
HBeAs negatief

S/5632:

HBsAg negatief  
HBsAs positief  
HBcAs negatief  
HBeAg negatief  
HBeAs negatief

Voor staal S/5624 voerden de 177 laboratoria 776 testen uit die als volgt verdeeld waren:

- HBsAg: 177 testen
- HBsAg confirmatie: 13 testen
- anti-HBs: 175 testen
- anti-HBs totale As: 170 testen
- IgM anti-HBc: 10 testen
- HBe Ag: 118 testen
- anti-HBe As: 113 testen

1 laboratorium voerde 1 test uit, 4 laboratoria 2 testen, 51 laboratoria 3 testen, 7 laboratoria 4 testen, 101 laboratoria 5 testen, 10 laboratoria 6 testen en 3 laboratoria 7 testen.

Voor staal S/5632 voerden de 177 laboratoria 712 testen uit die als volgt verdeeld waren:

- HBsAg: 177 testen
- HBsAg confirmatie: 2 testen
- anti-HBs As: 175 testen
- anti-HBc totale As: 170 testen
- IgM anti-HBc: 6 testen
- HBeAg: 94 testen
- anti-HBe As: 88 testen

1 laboratorium voerde 1 test uit, 4 laboratoria 2 testen, 77 laboratoria 3 testen, 7 laboratoria 4 testen, 85 laboratoria 5 testen, 2 laboratoria 6 testen en 1 laboratorium 7 testen.

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- HBsAg: AxSym HBsAg (Abbott) (22.6%, beide stalen), Architect HBsAg (Abbott) (20.3%, beide stalen), ADVIA Centaur HBsAg (Siemens) (10.2%, beide stalen), Acces HBsAg (Beckman) (7.9%, beide stalen), VIDAS HBsAg Ultra (bioMérieux) (7.3%, beide stalen) en Modular HBsAg (Roche) (5.6%, beide stalen)
- HBs Ag confirmatie: Architect HBsAg Confirmatory (Abbott) (38.4%, S/5624)
- Anti HBs As: AxSym AUSAB (Abbott) (21.7%, beide stalen), Architect anti-HBs (Abbott) (20.0%, beide stalen), ADVIA Centaur anti-HBs (Siemens) (10.3%, beide stalen), VIDAS anti-HBs Total Quick (bioMérieux) (6.9%, beide stalen), Acces HBsAb (Beckman) (6.3%, beide stalen) en Modular anti-HBs (Roche) (6.3%, beide stalen)
- Anti HBc totale As: AxSym CORE (Abbott) (22.4%, beide stalen), Architect anti-HBc (Abbott) (18.2%, beide stalen), VIDAS anti-HBc Total II (bioMérieux) (10.0%, beide stalen), ADVIA Centaur anti-HBc Total (Siemens) (9.4%, beide stalen), Acces HBcAb (Beckman) (7.6%, beide stalen) en Modular anti-HBc (Roche) (6.5%, beide stalen)
- Anti HBc IgM: Architect anti-HBc IgM (Abbott) (30.0%, S/5624), VIDAS HBc IgM II (bioMérieux) (respectievelijk 20.0% en 33.0%)
- HBeAg: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (respectievelijk 44.9% en 38.3%), AxSym HBe 2.0 (Abbott) (respectievelijk 17.8% en 19.1%), Architect HBeAg (Abbott) (respectievelijk 15.3% en 17.0%) en LIAISON HBeAg (Diasorin) (respectievelijk 8.5% en 9.6%)
- Anti HBe As: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (respectievelijk 41.6% en 34.1%), AxSym anti-HBe 2.0 (Abbott) (respectievelijk 18.6% en 19.3%), Architect anti-HBe (Abbott) (respectievelijk 16.8% en 19.3%) en LIAISON anti-HBe (Diasorin) (respectievelijk 8.8% en 10.2%)

De resultaten kunnen als volgt samengevat worden

S/5624: alle deelnemers vonden HBsAg positief (inclusief de HBsAg confirmatie in geval ze deze uitvoerden); alle deelnemers vonden anti-HBs As negatief; 98.8% vonden de totale anti-HBc As positief, 90% de HBc IgM negatief; alle deelnemers vonden HBeAg positief; 98.2% vonden de anti-HBe As negatief.

S/5632: 98.3% van de deelnemers vonden HBsAg negatief; alle deelnemers vonden anti-HBs As positief, de totale anti-HBc As negatief, de HBc IgM negatief en HBeAg negatief; 98.9% vonden de anti-HBe As negatief.

### **3.2. HCV**

Op dezelfde stalen waarop de HBV serologie uitgevoerd werd (cfr. 3.1.), dienden eveneens de anti-HCV antistoffen bepaald te worden.

De verwachte resultaten waren :

S/5624:As negatief

S/5632:As positief

173 Belgische en Luxemburgse klinische laboratoria hebben de anti-HCV antistoffen bepaald. Een aantal laboratoria voerde twee testen uit per staal: 6 laboratoria op staal S/5624 en 15 laboratoria op staal S/5632.

Op staal S/5624 werden 178 ELISA-testen en 1 blottest uitgevoerd; op staal S/5632, 180 ELISA-testen, 3 LIA-testen en 5 blottesten.

De meest gebruikte kits waren: AxSym HCV 3.0 (Abbott) (24.6% en 23.9%), Architect HCV (Abbott) (20.7% en 19.7%), ADVIA Centaur HCV (Siemens) (12.3% en 11.7%), Access HCV Ab Plus op Unicel Dxl 800 (Biorad) (7.8% en 7.4%) en Access HCV Ab Plus op Access (Biorad) (7.3% en 6.9%)

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor staal S/5624 en een positief resultaat voor staal S/5632.

### 3.3. Interpretatie van HBV en HCV

Zoals reeds vermeld in hoofdstuk 3.1. diende op beide stalen de gecombineerde interpretatie van HBV en HCV uitgevoerd te worden. Voor laboratoria die slechts 1 van deze beide parameters bepalen, werden aparte antwoordmogelijkheden voorzien.

De verwachte interpretaties waren:

S/5624: "Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie"

S/5632: "Immuniteit na hepatitis B vaccinatie; de mogelijkheid van een hepatitis C virus infectie dient bevestigd te worden via bijkomende onderzoeken"

Uiteindelijk gaven 166 laboratoria een gecombineerde interpretatie voor staal S/5624 en 168 laboratoria voor staal S/5632.

Voor staal S/5624 opteerden 164 (98.8%) laboratoria voor de interpretatie "Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie". Eén laboratorium verkoos een andere van de voorgestelde interpretaties en één laboratorium stelde een eigen interpretatie voor.

Voor staal S/5632 kozen 161 (95.8%) laboratoria voor de interpretatie "Immuniteit na hepatitis B vaccinatie; de mogelijkheid van een hepatitis C virus infectie dient bevestigd te worden via bijkomende onderzoeken". Vijf (3.0%) laboratoria verkozen een andere van de voorgestelde interpretaties of combinaties hiervan. Twee (1.2%) laboratoria stelden een eigen interpretatie voor.

Het commentaar betreffende HBV vermeldde enkele definities betreffende deze aandoening:

- **chronische HBV**: het **persisteren van het HBs Ag over 2 staalnames met 6 maanden interval**.
- **immuniteit**: **aanwezigheid van anti-HBs** (neutraliserende antistoffen). De immuniteit is het **gevolg van vaccinatie indien de anti-HBs As geïsoleerd aanwezig zijn**; ze is te wijten aan een **vroegere natuurlijke infectie indien zowel anti-HBs As als anti-HBc As aanwezig zijn**. In beide gevallen is het **HBs Ag negatief**.

Tevens vermeldde het commentaar dat het zinvol is om **HBe Ag, anti-HBe As en HBc IgM als complementaire testen** uit te voeren in geval van **aanwezigheid van het HBs Ag**.

Het opsporen van het **virale DNA met PCR** is over het algemeen **niet noodzakelijk in de diagnose van een acute hepatitis**; dit is **wel zinvol bij chronische hepatitisen** waar de **serologie niet duidelijk** is (geïsoleerde anti-HBc, seronegatieve chronische hepatitis,...). De **kwantitatieve dosering van het virale DNA of de virale lading** is aangewezen bij de **oppositie van een chronische hepatitis B, vóór het instellen van de therapie** en nadien om de **efficiëntie van deze therapie op te volgen**.

Het commentaar over de HCV vermeldde dat hoewel de 3e generatie screeningstesten een verbeterde gevoeligheid en specificiteit hebben in vergelijking met de voorgaande generaties, er een zeker percentage vals positieven bestaat, vooral in populaties met een geringe prevalentie en in afwezigheid van een risicofactor, of een suggestieve klinische of biologische context.

**Immunoblot testen** laten uiteraard toe om de specificiteit van de screeningstest na te gaan maar ze zijn duur en van **bepaald nut als confirmatietest** in het geval van een staal met vergelijkbare resultaten als staal S/5632. Inderdaad, in een **context van hepatitis**, acuut of chronisch, **maakt de detectie van anti-HCV antistoffen door een screeningstest** (ten minste indien het resultaat duidelijk positief is) de **diagnose van een HCV waarschijnlijk** en

moet deze **geconfirmeerd worden door het opsporen van het viraal genoom** via PCR of een andere moleculaire techniek. Enkel dergelijk type test laat toe om te besluiten dat de patiënt drager is van het virus.

### **3.4. Toxoplasma**

Er waren 2 gelyofiliseerde stalen, S/5630 en S/6974 waarop antistoffen tegen Toxoplasma bepaald dienden te worden.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

S/5630: "Afname tijdens het eerste trimester van een zwangerschap"

S/6974: "Afname tijdens het eerste trimester van een zwangerschap"

De verwachte resultaten waren :

S/5630: IgG negatief

IgM negatief

Interpretatie: Afwezigheid van specifieke antistoffen

S/6974: IgG positief

IgM negatief

Interpretatie: Aanwezigheid van antistoffen suggestief voor een oud contact (beschermende antilichamen)

165 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 337 testen uit op staal S/5630 en 355 testen op staal S/6974.

Op staal S/5630 voerde 1 laboratorium 1 test uit, 158 laboratoria voerden 2 testen uit, 4 laboratoria 3 testen en 2 laboratoria 4 testen.

Op staal S/6974 voerde 1 laboratorium 1 test uit, 141 laboratoria voerden 2 testen uit, 20 laboratoria 3 testen en 3 laboratoria 4 testen.

Onderstaande tabel geeft een overzicht van de uitgevoerde testen per staal per aantal laboratoria.

Tabel 3.4.1. Aantal deelnemers verdeeld per uitgevoerde parameters voor Toxoplasma (enquête 2009/2)

Aantal testen	Types test	S/5630	S/6974
1 test	IgM	1	1
2 testen	IgG + IgM	158	141
3 testen	IgA + IgG + IgM	2	1
	IgG + IgG + IgM	1	-
	IgG + IgM + IgM	1	1
	IgG + IgM + aviditeit	-	18
4 testen	IgG + IgG + IgM + IgM	2	2
	IgA + IgG + IgM + aviditeit	-	1
<b>Totaal</b>		<b>165</b>	<b>165</b>

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- IgG: AxSym Toxo IgG (Abbott) (28.7% en 28.9%), Liaison Toxo IgG (DiaSorin) (14.4% en 14.5%), VIDAS Toxo IgG II (bioMérieux) (13.8% en 13.3%), Advia Centaur Toxo IgG (Siemens) (9.0% beide stalen)
- IgM (zelfde percentages voor beide stalen): AxSym Toxo IgM (Abbott) (32.7%), Liaison Toxo IgM (DiaSorin) (14.3%), VIDAS Toxo IgM (bioMérieux) (12.5%), Advia Centaur Toxo IgM (Siemens) (8.9%)
- IgG aviditeit (staal M/6974): VIDAS Toxo IgG avidity (bioMérieux) (78.9%)

Voor staal S/5630 bekwamen alle laboratoria een negatief resultaat voor de IgG. 164 laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de IgM; één laboratorium bekwam een positief resultaat voor de IgM (mogelijk overschrijffout waarbij IgM van staal S/5630 en IgG van staal S/6974 omgewisseld werden; de interpretatie van dit laboratorium was correct). Beide laboratoria die de IgA bepaalden, vonden deze negatief.

161 (97.6%) gaven de correcte interpretatie "Afwezigheid van specifieke antistoffen". Twee laboratoria verkozen "Serologisch patroon kan een recente infectie niet uitsluiten of bevestigen; te confirmeren met een follow-up staal". Eén laboratorium combineerde deze beide interpretaties. Eén laboratorium dat enkel de IgM bepaalde, verkoos geen interpretatie te geven.

Voor staal S/6974 bekwamen 159 laboratoria een positief resultaat voor de IgG, twee een borderline en 3 een negatief (1 hiervan is het hierboven reeds vermeldde laboratorium, voor beide andere betrof het wellicht het aankruisen van het verkeerde vakje op het antwoordformulier: hun kwantitatieve resultaten wijzen duidelijk op een positief resultaat). Voor IgM en IgA waren alle resultaten negatief. Achttien laboratoria bekwamen een hoge aviditeit, één een borderline.

161 (97.6%) gaven de correcte interpretatie "Aanwezigheid van antistoffen suggestief voor een oud contact (beschermende antilichamen)". Eén laboratorium verkoos "Serologisch patroon kan een recente infectie niet uitsluiten of bevestigen; te confirmeren met een follow-up staal". Eén laboratorium combineerde deze beide interpretaties. Twee laboratoria, waaronder opnieuw het laboratorium dat enkel de IgM bepaalde, verkozen geen interpretatie te geven.

Het commentaar vermeldde dat het opsporen van IgA en/of IgG aviditeit met het huidige serologisch profiel niet noodzakelijk is en geen bijkomende inlichtingen geeft. Men kan veronderstellen dat deze analyses enkel werden uitgevoerd omdat het hier een kwaliteitscontrole betrof en dat deze analyses in een routine setting niet zouden worden uitgevoerd.

Er werd eveneens ingegaan op de twee laboratoria die een borderline positief resultaat in IgG vonden. De waarden die echter werden opgetekend door deze 2 labo's (resp. 40 en 57.6 IU) pleiten echter eerder voor een positieve waarde. Deze laboratoria zouden hun interpretatiewaarden eens moeten nakijken.

Enkele laboratoria vroegen een tweede staal om met zekerheid een beginnende recente infectie uit te sluiten. Hoewel dit strikt genomen niet foutief is, **moeten we toch vermijden om te vaak controlestalen te vragen bij een banale serologie** (zeker in het kader van een zwangerschapsscreening).

Tot slot werd opgemerkt dat er opnieuw wat onzorgvuldigheid was in het antwoorden van de resultaten. Dit is een steeds terugkerend fenomeen en kan waarschijnlijk worden toegeschreven aan een andere manier van antwoorden van de resultaten bij een kwaliteitscontrole.



### 3.5. Borrelia

Er werden 2 stalen rondgestuurd voor Borrelia-serologie.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

S/1196: "Gewrichtspijnen bij een boswachter."

S/1360: "Een 30-jarige man maakt geregeld lange wandelingen in bosrijke gebieden. Na één van zijn wandelingen merkt hij een teek op, welke hij verwijdert. Na twee weken heeft hij last van hevige pijn en gevoelsverlies in zijn linkerarm. Er wordt besloten een bloedname te verrichten."

De verwachte resultaten waren :

S/1196: IgG negatief

IgM negatief

Interpretatie: Afwezigheid van antistoffen

S/1360: IgG positief

IgM negatief

Interpretatie: Aanwezigheid van antistoffen

137 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 231 testen uit op staal S/1196 en 257 testen op staal S/1360.

De verdeling van de gebruikte testen in functie van de gebruikte technieken wordt weergegeven in tabel 3.5.1.

Tabel 3.5.1. Verdeling der gebruikte testen in functie van de techniek voor bepaling van anti-Borrelia antistoffen, enquête 2009/2.

Aantal testen	Aard kit	Type techniek	S/1196	S/1360
1 test	Tot. As	algemeen	45	41
		anti-C6	8	6
2 testen	IgG en IgM	nietblot – nietblot	76	64
3 testen	Tot. As en IgG en IgM	algemeen – nietblot – nietblot	4	4
		algemeen – blot – blot	-	4
		antiC6 – nietblot – nietblot	1	1
		antiC6 – blot – blot	1	3
		IgG en IgG en IgM	nietblot – blot – nietblot	-
4 testen	IgG en IgG en IgM en IgM	nietblot – blot – nietblot – blot	1	3
		nietblot – nietblot – nietblot – nietblot	1	1
<b>Totaal</b>			<b>137</b>	<b>137</b>

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- totale antistoffen (zelfde percentages voor beide stalen): VIDAS Lyme IgG+IgM (bioMérieux) (79.7%), C6 B. burgdorferi (Lyme) ELISA (Immunetics) (16.9%)
- IgG: Liaison Borrelia IgG (Diasorin) (55.8% en 46.2%), Borrelia Plus VLsE Elisa IgG (Euroimmun) (24.4% en 20.2%), Enzygnost Lyme link VLsE IgG (Dade Behring) (10.5% en 8.7%), Euroline WB IgG (Euroimmun) (staal S/1360: 14.4%)
- IgM: Liaison Borrelia IgM II (Diasorin) (54.7% en 50.0%), Anti-Borrelia Elisa (IgM) (Euroimmun) (24.4% en 22.3%), Enzygnost Borreliosis IgM (Dade Behring) (10.5% en 9.6%), Euroline WB Borrelia IgM (Euroimmun) (staal S/1360: 9.6%)

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de totale antistoffen en de IgG voor staal S/1196; voor de IgM, bekwamen eveneens alle laboratoria een negatief resultaat, op 1 laboratorium (met een positief resultaat) na.

136 (99.3%) laboratoria gaven de interpretatie "Afwezigheid van antistoffen"; het laboratoria dat de IgM als positief beoordeelde, koos voor de interpretatie "Aanwezigheid van Borrelia antistoffen. Het serologisch resultaat ondersteunt de diagnose van Lyme borreliosis niet indien de klachten al meer dan 6 weken aanwezig zijn."

Twee laboratoria die de "algemene" totale antistoffen bepaalden bekwamen een positief resultaat voor staal S/1360, drie een negatief resultaat en 44 een borderline resultaat. Alle negatieve en borderline resultaten werden bekomen met de VIDAS Lyme IgG + IgM kit van bioMérieux.

De firma werd hierover gecontacteerd. U vindt hieronder het resultaat van hun onderzoek en het commentaar van hun referentielaboratorium:

Analyse van staal in QC-labo bioMérieux Lyon :

- test van dit staal op 2 loten Vidas Lyme :

- o lot 090929-0 : Test Value = 0.77 = twijfelachtig
- o lot 100313-0 : Test Value = 0.79 = twijfelachtig

- Western Blot:

- o positief voor B. garinii Immunblot G en negatief voor Immunoblot M
- o test op 4 loten Vidas Lyme (met verschillende loten antigenen) :
- o resultaten twijfelachtig en reproduceerbaar voor alle loten.

Commentaar van ons referentielaboratorium Lyme (Dr Peter – Zwitserland) :

- De resultaten verkregen in Immunoblot komen overeen met een « serologisch litteken », want er is IgG (OspA) aanwezig en geen IgM. Dr Peter stelt dat de Vidas Lyme-test snel positieveert bij recente en actieve infecties (hoge gevoeligheid voor IgM), en een goede gevoeligheid vertoont voor actieve chronische infecties.
- Hij stelt eveneens dat de Vidas Lyme-test sneller negatief wordt dan andere testen bij oude infecties zonder symptomen (zoals bij « serologische litteken'-gevallen). Dit geeft volgens hem geen moeilijkheden, want men raadt dan aan een opvolging te doen van de patiënt na 3 tot 4 weken.
- Als na 3 tot 4 weken er geen evolutie is in de serologie, besluit hij tot een niet-actieve oude infectie.

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de anti-C6 antistoffen voor staal S/1360.

Voor de niet-blot testen voor IgG bekwamen 82 (98.8%) laboratoria een positief resultaat en één laboratorium een borderline resultaat. Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de blottesten.

Voor de niet-blot testen voor IgM bekwamen 82 (98.8%) laboratoria een negatief resultaat en één laboratorium een positief resultaat. Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de blottesten.

98 (71.5%) laboratoria gaven de interpretatie "Aanwezigheid van antistoffen"; 6 (4.4%) laboratoria gaven de interpretatie "Aanwezigheid van Borrelia antistoffen. Het serologisch resultaat ondersteunt de diagnose van Lyme borreliosis niet indien de klachten al meer dan 6 weken aanwezig zijn." 30 (21.9%) laboratoria verkozen een eigen variant die "aanwezigheid van antistoffen" omvatte, doch waarbij dit antwoord genuanceerd werd. Twee (1.5%) laboratoria (die beiden voor de totale AS een negatief resultaat bekomen hadden) gaven als interpretatie "Afwezigheid van antistoffen". Eén laboratorium liet de interpretatie open.

Het commentaar op de enquête benadrukte dat het staal S/1196 geen problemen stelde. Voor het staal S/1360 was het correcte antwoord: "Aanwezigheid van antistoffen". Het is echter belangrijk om op te merken dat de resultaten van het serologisch onderzoek de diagnose van een recente infectie niet ondersteunen en dat bij blijvende klinische verdenking de analyse van een opvolgserum aangewezen is. Hierbij dienen we nog op te merken dat analyse van een tweede serum minder zinvol is indien de clinicus toch beslist om antibioticatherapie op te starten. In dit geval dient de respons op therapie klinisch geëvalueerd te worden. Het uitblijven van een serologische respons sluit hier de diagnose niet uit aangezien behandeling met antibiotica in een vroegtijdig stadium ervoor kan zorgen dat verdere antistofproductie uitblijft.

Wat betreft de **noodzaak tot confirmatie van een positief resultaat** verkregen met een screeningstest is het **niet zo dat een positieve screeningstest steeds dient gevolgd te worden door immunoblot analyse**. De **Nederlands CBO richtlijn** heeft volgende **aanbevelingen**. Bij **patiënten met een zeer hoge voorafkans op Lyme-borreliose** is in geval van een positieve uitslag van eerste-of tweede generatie ELISA- of IFA- **confirmatie met immunoblot** niet nodig omdat de positiefvoorspellende waarden van een (positieve) uitslag van ELISA of IFA in die gevallen zeer hoog is. Wanneer bij patiënten **met een matige of lage voorafkans** op Lyme-borreliose **en lang bestaande klachten (>8 weken)** een positieve ELISA of IFA wordt gevonden, wordt aanbevolen deze te **confirmeren met een western blot**. Een negatieve blot sluit de diagnose Lyme-borreliose uit.

Ten slotte willen we er nog eens op wijzen dat een **positieve blot niet aantoont dat de klachten door Lyme-borreliose worden veroorzaakt**. De diagnose van Lyme-borreliose blijft in eerste plaats een klinische diagnose.

### **3.6. CMV**

Er werd één staal (S/9685) opgestuurd van met als klinische inlichtingen: “Een vrouw op vruchtbare leeftijd raadpleegt haar arts voor een griepaal syndroom met koorts, spierpijnen en algemeen gevoel van onwelzijn. Het staal werd afgenomen één maand na de start van de klinische symptomen.”

De laboratoria met even en oneven erkenningsnummer ontvingen onder hetzelfde staalnummer evenwel een verschillend staal.

De serologie voor zowel CMV als EBV diende op dit staal uitgevoerd te worden.

Er werd gevraagd om CMV en EBV samen te interpreteren (cfr. 3.8. Interpretatie van CMV en EBV).

De verwachte resultaten voor CMV waren :

Even laboratoria:           IgG positief  
                                  IgM positief  
Oneven laboratoria:        IgG positief  
                                  IgM positief

168 laboratoria namen deel aan deze enquête.

De 96 even laboratoria voerden 257 testen uit en de 72 oneven laboratoria 179 testen. Een overzicht van het aantal en type bepalingen per laboratorium wordt in tabel 3.6.1 weergegeven.

Tabel 3.6.1. Aantal deelnemers verdeeld per uitgevoerde parameters

<b>Aantal testen</b>	<b>Type test</b>	<b>Even laboratoria</b>	<b>Oneven laboratoria</b>
1 test	IgG	-	1
2 testen	IgG + IgM	37	39
	IgG + totale AS	-	1
3 testen	IgG + IgM + aviditeit	51	24
	IgG + IgM + IgM	2	2
4 testen	IgG + IgM + IgM + aviditeit	4	4
	IgG + IgG + IgM + aviditeit	-	1
	IgG + IgG + IgM + IgM	2	-
<b>Totaal</b>		<b>96</b>	<b>72</b>

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- IgG: VIDAS CMV IgG (bioMérieux) (24.6%), Liaison CMV IgG (Diasorin) (19.9%), AxSYM CMV IgG (Abbott) (18.7%) en Architect CMV IgG (Abbott) (18.1%)
- IgM: VIDAS CMV IgM (bioMérieux) (30.6%), Liaison CMV IgM (Diasorin) (20.0%), Architect CMV IgM (Abbott) (16.7%) en AxSYM CMV IgM (Abbott) (12.2%)
- aviditeit: VIDAS CMV IgG avidity (bioMérieux) (71.4 %) en Liaison CMV IgG avidity (Diasorin) (19.0%)

Alle even laboratoria bekwamen een positief resultaat voor IgG en IgM. 44 (80%) laboratoria bekwamen een lage aviditeit, 10 (18.2%) laboratoria een intermediaire aviditeit en 1 (1.8%) laboratorium antwoordde “hoog” (voor een kwantitatief resultaat: ratio = 9).

Alle oneven laboratoria bekwamen een positief resultaat voor IgG en IgM. 28 (96.6%) laboratoria bekwamen een lage aviditeit en 1 (3.4%) laboratorium antwoordde hoog (voor een kwantitatief resultaat: index = 1.05).

### **3.7. EBV**

Op hetzelfde staal waarop de CMV serologie uitgevoerd werd (cfr. 3.6.) , diende eveneens de EBV-serologie uitgevoerd te worden.

De verwachte resultaten voor EBV waren :

Even laboratoria: IgG positief  
IgM negatief  
Oneven laboratoria: IgG positief  
IgM positief

158 laboratoria namen deel aan deze enquête.

De 92 even laboratoria voerden 285 testen uit. De 66 oneven laboratoria voerden 205 testen uit.

Een overzicht van het aantal en type bepalingen per laboratorium wordt in tabel 3.7.1 weergegeven.

Tabel 3.7.1. Combinaties van testen uitgevoerd door de deelnemers

<b>Aantal testen</b>	<b>Parameter</b>	<b>Even laboratoria</b>	<b>Oneven laboratoria</b>
1 test	Heterofiele AS	4	1
	EBNA IgG	1	1
2 testen	Heterofiele AS + VCA IgM	1	-
	VCA IgG + VCA IgM	13	12
	VCA-EA IgG + VCA IgM	2	-
	EBNA IgG + VCA IgM	1	3
	Totale IgG + Totale IgM	1	2
3 testen	Heterofiele AS + VCA IgG + VCA IgM	14	7
	Heterofiele AS + VCA-EA IgG + VCA IgM	2	2
	Heterofiele AS + Totale IgG + Totale IgM	6	3
	Heterofiele AS + EBNA IgG + VCA IgM	2	6
	Heterofiele AS + EBNA IgG + EA IgM	1	1
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	8	4
	VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	3	2
	Totale IgG + Totale IgM + EBNA IgG	1	-
4 testen	Heterofiele AS + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	17	12
	Heterofiele AS + VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	2	2
	Heterofiele AS + Totale IgG + Totale IgM + EBNA IgG	1	1
	Heterofiele AS + VCA IgG + 2 VCA IgM	-	1
	Heterofiele AS + VCA-EA IgG + 2 VCA IgM	1	-
	2 Heterofiele AS + VCA IgM + EBNA IgG	1	-
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	4	-
	VCA-EA IgG + VCA IgG + 2 VCA IgM	1	-
5 testen	Heterofiele AS + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	3	6
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG + EA IgM	1	-
	Totale IgG + Totale IgM + VCA IgG + EBNA IgG + EA IgG	1	-
<b>Totaal</b>		<b>92</b>	<b>66</b>

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- heterofiele antistoffen: Clearview IM (Inverness medical) (50%) en Monogen (Biokit) (10.2%)
- totale IgG: Enzygnost anti-EBV IgG (Siemens) (100.0%)
- VCA-EA IgG: VIDAS EBV VCA-EA IgG (bioMérieux) (100.0%)
- VCA IgG: Liaison VCA IgG (Diasorin) (47.1%) en Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgG Elisa (Euroimmun) (16.3%)
- EBNA IgG: Liaison EBNA IgG (Diasorin) (41.2%), VIDAS EBV EBNA IgG (bioMérieux) (16.5%) en Epstein Barr virus nuclear antigen (EBNA-1) IgG Elisa (Euroimmun) (10.6%)
- EA IgG: Liaison EA IgG (Diasorin) (73.3%)

- VCA IgM: Liaison VCA IgM (Diasorin) (36.8%), Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgM Elisa (Euroimmun) (14.7%) en VIDAS EBV VCA IgM (bioMérieux) (13.2%)

Alle even laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de heterofiele antistoffen en de EA IgG. Alle even laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de totale IgG, de VCA-EA IgG en de VCA IgG. Voor de EBNA IgG bekwamen 45 (95.7%) laboratoria een positief resultaat en 2 (4.3%) een negatief. Alle even laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de totale IgM. Voor de VCA IgM bekwamen 60 (78.9%) laboratoria een negatief resultaat, 3 (3.9%) een borderline en 12 (15.8%) een positief; één laboratorium bekwam verschillende resultaten (negatief en positief) met 2 verschillende technieken.

41 oneven laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de heterofiele antistoffen; één laboratorium een borderline. Alle oneven laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de totale IgG, de VCA-EA IgG, de VCA IgG en de EBNA IgG. Voor de EA IgG bekwamen drie laboratoria een positief resultaat, twee een borderline en één een negatief. Alle oneven laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de totale IgM. Voor de VCA IgM bekwamen 27 (46.6%) laboratoria een negatief resultaat, 5 (8.6%) een borderline en 25 (43.1%) een positief; één laboratorium bekwam verschillende resultaten (negatief en positief) met 2 verschillende technieken.

Het commentaar op de enquête benadrukte dat voor de VCA-IGM bepaling een groot aantal kits ter beschikking zijn, waarvan sommigen minder en anderen meer gevoelig zijn voor reactivaties/reinfecties, maar klinisch vormt dit geen al te groot probleem. Tevens zijn de kits bij sommige firma's gevoeliger voor kruisreacties dan bij andere firma's (en dus laat de specificiteit het soms afweten) Deze "aspecifieke" VCA-IgM zouden op zich eventueel de interpretatie kunnen beïnvloeden, maar wanneer je de EBNA-1 IgG laat doorwegen in de besluitvorming zou de aanwezigheid van VCA-IgM niet al te veel invloed mogen hebben op de interpretatie

### **3.8. Interpretatie van CMV en EBV**

Zoals reeds vermeld in hoofdstuk 3.6. diende op beide stalen de gecombineerde interpretatie van CMV en EBV uitgevoerd te worden. Voor laboratoria die slechts 1 van deze beide parameters bepalen, werden aparte antwoordmogelijkheden voorzien.

De verwachte interpretatie was voor beide groepen laboratoria:

“Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie en voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie”.

Varianten hierop die het bevestigen of uitsluiten van beide of één van beide parameters inhielden waren aanvaardbaar.

151 laboratoria (89 pare en 62 onpare) stuurden hun interpretatie voor de **combinatie van beide serologieën** in.

Voor de pare laboratoria ontvingen we volgende antwoorden:

- 57 (64%) laboratoria: “Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie en voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie”
- 22 (24.7%) laboratoria: “Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie; positieve reactie in de IgM assay voor CMV; om een primaire CMV-infectie uit te sluiten is een bevestiging nodig”
- 5 (5.6%) laboratoria: “Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie; positieve reactie in de IgM assay voor EBV; om een primaire EBV-infectie uit te sluiten is een bevestiging nodig”
- 3 (3.4%) laboratoria: “Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie en/of een EBV primoinfectie; verder onderzoek is noodzakelijk om het onderscheid te maken”
- 1 (1.1%) laboratorium: “Serologie suggestief voor een EBV primoinfectie; positieve reactie in de IgM assay voor CMV; om een primaire CMV-infectie uit te sluiten is een bevestiging nodig”
- 1 (1.1%) laboratorium: “Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie; negatieve EBV serologie”

Voor de onpare laboratoria ontvingen we volgende antwoorden:

- 31 (50%) laboratoria: “Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie en voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie”
- 2 (3.2%) laboratoria gaven een eigen variant hierop
- 16 (25.8%) laboratoria: “Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie; positieve reactie in de IgM assay voor CMV; om een primaire CMV-infectie uit te sluiten is een bevestiging nodig”
- 7 (11.3%) laboratoria: “Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie; positieve reactie in de IgM assay voor EBV; om een primaire EBV-infectie uit te sluiten is een bevestiging nodig”
- 1 (1.1%) laboratorium gaf een eigen variant hierop
- 3 (4.8%) laboratoria: “Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie en/of een EBV primoinfectie; verder onderzoek is noodzakelijk om het onderscheid te maken”
- 1 (1.1%) laboratorium gaf een eigen variant hierop
- 1 (1.1%) laboratorium: “Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte CMV infectie en voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie”

16 laboratoria (8 pare en 8 onpare) stuurden hun interpretatie voor **CMV** in

Voor de pare laboratoria ontvingen we volgende antwoorden:

- 5 (62.5%) laboratoria: "Positieve reactie in de IgM assay voor CMV; om een primaire CMV-infectie uit te sluiten is een bevestiging nodig"
- 2 (25%) laboratoria: "Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie"
- 1 (12.5%) laboratorium: "Wordt in BTC-context beschouwd als positieve CMV-donor"

Voor de onpare laboratoria ontvingen we volgende antwoorden:

- 4 (50%) laboratoria: "Positieve reactie in de IgM assay voor CMV; om een primaire CMV-infectie uit te sluiten is een bevestiging nodig"
- 2 (25%) laboratoria: "Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie"
- 1 (12.5%) laboratorium: "Positieve reactie in de IgG assay voor CMV"
- 1 (12.5%) laboratorium: "Geen resultaat voor IgM -> interpretatie onmogelijk"

Eén (onpaar) laboratorium stuurde zijn interpretatie voor **EBV** in: "Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie."

In het commentaar werd volgende tabel opgenomen die op een gemakkelijke en eenvoudige wijze de interpretatie van de EBV serologie toelaat:

Tabel 3.8.1. Interpretation of EBV-specific serological profiles for diagnosis

Atypical lymphocytes	Heterophile antibodies	VCA IgG	VCA IgM	EBNA-1 IgG	Interpretation
-	-	-	-	-	No infection
+/-	+/-	+	+	-	Acute infection
-	-	+	-	+	Past infection
-	-	+	+	+	Past infection most probable
+/-	+/-	+	-	-	Past infection **
-	-	-	+	-	Undetermined*
-	-	-	-	+	Impossible***

\* Follow-up serum necessary to evidence seroconversion IgG (early phase infection)

\*\* Additional testing could be useful in specific circumstances, e.g. VCA-IgG avidity testing, Western blotting, or PCR

\*\*\* Exceptionally when used in combination with an insensitive VCA-IgG test

Met betrekking tot de interpretatie van de CMV-serologie vermeldde het commentaar dat de diagnose van primaire CMV-infectie 100% zeker en duidelijk is in geval van waarneming van een seroconversie t.o.v. CMV. Anti-CMV IgM antilichamen zijn een goede indicator voor acute of recente infectie, maar kunnen niet steeds gecorreleerd worden aan primo-infectie. Men kan IgM produceren gedurende reactivaties of reïnfecties. Daarenboven kunnen IgM antilichamen in sommige personen gedetecteerd worden 6 tot 9 maanden na het einde van de acute fase van primo-infectie, vals-positieve resultaten zijn frequent en treden mogelijk op in individuen met andere virale infecties (parvovirus B19, EBV,...). De anti-CMV IgG aviditeitstest is op dit moment de meest betrouwbare serologische procedure om primaire infectie, in de laatste 12 weken voor staalname, uit te sluiten ( in geval van hoge aviditeit). De antilichamen geproduceerd tijdens de primaire immuunrespons bezitten een veel lagere antigen-aviditeit dan de antilichamen die later verschijnen. Een **lage aviditeitsindex** wijst niet noodzakelijk op een recente primo-infectie en **draagt dus niets bij**.



Het besluit van het commentaar luidde dat het **serologisch profiel**, alvorens definitieve besluitvorming, steeds **geïnterpreteerd dient te worden na evaluatie van het geheel aan bekomen parameters**, en men zich **nooit mag blind staren op een geïsoleerd resultaat**. Belangrijk in deze kwaliteitscontrole blijkt de **rol van de klinisch-bioloog bij het beperken van overconsumptie** (waarbij **bepaalde**, soms wat duurdere, testen **voorbehouden** dienen te blijven **voor specifieke risicogroepen**) en de **adviserende rol die hij kan spelen t.o.v. de aanvrager met betrekking tot een adequate interpretatie**. Zo dienen bijvoorbeeld aviditeitstesten voorbehouden te blijven voor zwangeren en hoog-risicopatiënten waar een acute infectie negatieve complicaties kan teweeg brengen, bv. oncologiepatiënten alvorens de start van inductiechemotherapie.

### **3.9. HIV**

Twee vloeibare plasmamonsters werden rondgestuurd, S/5621 en S/7743.

Monster S/5621 was negatief en monster S/7743 was positief voor anti-HIV antistoffen.

Aan deze enquête namen 178 Belgische en Luxemburgse laboratoria deel.

Op staal S/5621 voerden de laboratoria 193 screeningstesten uit: 163 laboratoria voerden 1 test uit en 15 laboratoria 2 testen. Daarnaast vermeldden 7 deelnemers het resultaat van de Ag p24 test die zij bekwamen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit en 1 deelnemer het resultaat van Ag p24 komen met de VIDAS HIV DUO QUICK kit, gebruikte 1 laboratorium de VIDAS HIV p24 II kit en voerden twee laboratoria een confirmatietest uit: één met de Inno-LIA HIV Confirmation en 1 met de GENELABS HIV 2.2 BLOT.

Op staal S/7743 voerden de laboratoria 201 screeningstesten uit: 155 laboratoria voerden 1 test uit en 23 laboratoria 2 testen. Daarnaast vermeldden 6 deelnemers het resultaat van de Ag p24 test bekomen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit en 1 deelnemer het resultaat van Ag p24 met de VIDAS HIV DUO QUICK kit, bepaalden 3 laboratoria Ag p24 met de VIDAS HIV p24 II kit en 1 met de Murex HIV Ag Mab kit; tevens hebben 2 laboratoria een confirmatietest uitgevoerd met de GENELABS HIV 2.2 BLOT en 3 met de Inno-LIA HIV Confirmation op dit staal.

De meest gebruikte reagentia waren Architect HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (20.2% en 19.4% voor de 2 stalen), AxSYM HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (16.6% en 15.9% voor de 2 stalen), HIV Combi 2<sup>nd</sup> Generation (Roche) (10.9% en 10.4% voor de 2 stalen), ADVIA Centaur HIV (Siemens) (9.8% en 9.5% voor de 2 stalen) en VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) (9.3% en 10.9% voor de 2 stalen).

Resultaat van de screeningstesten voor S/5621: het staal werd negatief bevonden door 177 (99.4%) laboratoria. Eén laboratorium kruiste het antwoordvakje "positief" aan (het kwantitatieve resultaat van dit laboratorium was echter een index van 0.36). Dit laatste laboratorium is het enige dat het staal in routine zou doorsturen naar een referentiecentrum

Alle resultaten van de Ag p24 testen en de confirmatietesten waren negatief.

Resultaat van de screeningstesten voor S/7743: 176 (98.9%) laboratoria bekwamen een positief resultaat met de screeningstesten. Eén laboratorium bekwam een borderline resultaat en één een negatief resultaat.

De Ag p24 bepalingen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit en VIDAS HIV DUO QUICK kit gaven het antwoord "ND" "Not Determined" weer; **voor de meeste laboratoria is het duidelijk 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; ook het resultaat van de Murex HIV Ag Mab was negatief.

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

172 laboratoria zouden het staal in routine doorsturen naar een referentielaboratorium; de 6 laboratoria die dit niet zouden doen, zijn laboratoria die zelf de confirmatietesten uitgevoerd hebben of vermelden zelf ARL te zijn.

Het commentaar over de enquête benadrukte dat dit de correcte procedure is.

Na de bevestiging van een positief resultaat, is het **belangrijk een tweede staal** af te nemen van dezelfde patiënt ten einde elke verwarring, die het gevolg kan zijn van administratieve of afnamefouten, uit te sluiten. Een positief resultaat is immers zeer belangrijk voor de patiënt

aangezien het, boven de leeftijd van 18 maanden (passieve antistoffen), een teken is van infectie door HIV.

Het **referentielaboratorium beschouwt** een persoon als **positief** wanneer de **2 stalen een positief resultaat opleverden**. Het voegt aan zijn antwoord een formulier toe met de vraag naar **epidemiologische gegevens**. Het verzamelen van deze gegevens maakt integraal deel uit van de verplichtingen van de AIDS referentielaboratoria. Deze gegevens zijn onontbeerlijk om de evolutie van de epidemie in ons land te kunnen opvolgen. De gecodeerde niet-nominatieve resultaten worden door een gemeenschappelijk secretariaat geanalyseerd en enkel de globale analyse is beschikbaar voor de autoriteiten en het grote publiek.