

**FEDERALE OVERHEIDSDIENST, VOLKSGEZONDHEID, VEILIGHEID
VAN DE VOEDSELKETEN EN LEEFMILIEU**

COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE

**DIENST VOOR LABORATORIA VAN KLINISCHE BIOLOGIE
COMITE VAN DESKUNDIGEN**

JAARRAPPORT 2010

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE VOOR
ANALYSEN KLINISCHE BIOLOGIE**

MICRO/SERO/PARA

WIV-2010/Micro/Sero/Para/82

Dienst Klinische Biologie
J. Wytsmanstraat, 14
1050 Brussel | België

www.wiv-isp.be

COMITE VAN EXPERTEN VOOR MICRO/SERO/PARA

| | | |
|-------------------------|---|---|
| WIV (secretariaat) | : | 02/642.55.22 – FAX : 02/642.56.45 |
| (Dr. VERNELEN K.) | : | 02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45 |
| (Coördinator) | : | e-mail : kris.vernelen@wiv-isp.be |
| Apr. 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 |

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/ nl/rapports_ annee.htm

I.MICROBIOLOGIE

In 2010 werden er 3 enquêtes georganiseerd in het kader van de EKE in de microbiologie. 176 laboratoria namen aan minstens één enquête deel. Drie laboratoria (1.7 %) namen deel aan 1 enquête, eveneens 3 (1.7 %) namen deel aan 2 enquêtes en 170 (96.6 %) aan 3 enquêtes. Drie laboratoria stopten hun activiteiten en één schreef zich laattijdig in. De deelname van de laboratoria bedroeg voor de opeenvolgende enquêtes 175, 173 en 171. Men onderscheidt 112 hospitaallaboratoria, 48 privé laboratoria, 5 laboratoria in poliklinieken en 11 andere laboratoria.

1.1. Verslag van de identificatie van de culturen.

1.1.1. Verdeling van de resultaten per monster.

Elf culturen werden onder gevriesdroogde vorm verzonden en één staal was een klinisch staal.

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

Voor *Salmonella typhimurium* var. Copenhagen (hemocultuur; enquête 2010/3) en *Fusobacterium nucleatum* (empyeempunctie; ; enquête 2010/3) werden een identificatie tot op het genusniveau als afdoende beschouwd.

Ter gelegenheid van de 3^e enquête werd onder hetzelfde staalnummer een verschillende kiem naar de laboratoria met paar (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) en onpaar (*Haemophilus parainfluenzae*) herkeningsnummer verstuurd

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

| Kiem | % aanvaardbare identificaties |
|--|-------------------------------|
| <i>Streptococcus agalactiae</i> (vaginale secretie) | 99.4 |
| <i>Enterococcus faecium</i> (hemocultuur) | 95.4 |
| <i>Bordetella bronchiseptica</i> (sputum) | 97.1 |
| Afwezigheid van pathogenen (vaginale wisser) | 87.4 |
| <i>Corynebacterium jeikeium</i> (urine) | 86.7 |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> (lumbaalvocht) | 98.3 |
| <i>Eikenella corrodens</i> (hondenbeet) | 90.2 |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> (hemocultuur) | 100.0 |
| <i>Streptococcus gallolyticus/bovis</i> (endocarditis) | 81.9 |
| <i>Salmonella Typhimurium</i> var. Copenhagen (hemocultuur) | 98.5 |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i> (empyeempunctie) | 81.9 |
| <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> (hemocultuur) (pare labo's) | 57.4 |
| <i>Haemophilus parainfluenzae</i> (hemocultuur) (onpare labo's) | 84.2 |

De verklaring voor de relatief lagere score voor *S. gallolyticus* ligt grotendeels in het feit dat Vitek 2 het onderscheid niet kan maken tussen *S. gallolyticus* en *S. mutans*.

De firma bioMérieux heeft ondertussen onderzoek verricht en de opname van bijkomende stammen in de database van de Vitek zou dit probleem moeten oplossen.

De relatief lagere score voor *F. nucleatum* kan verklaard worden door het feit dat een aantal laboratoria er niet in slaagden deze anaërobe kiem in kweek te brengen.

De foutieve antwoorden voor *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* zijn sterk uiteenlopend (*Actinobacillus* species, *Haemophilus* species, *Pasteurella* species, moeilijke groeiende kiem,...)

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

Elk laboratorium diende 12 identificaties te verwezenlijken. 64 (36.4%) laboratoria hebben alle identificaties correct of aanvaardbaar geantwoord. In het totaal hebben 112 (63.6 %) 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 | 64 (36.4%) |
| 1 | 66 (37.5%) |
| 2 | 29 (16.5%) |
| 3 | 7 (4.0%) |
| 4 | 8 (4.5%) |
| 5 | 2 (1.1%) |

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 | 62 (35.2%) |
| 1 | 66 (37.5%) |
| 2 | 29 (16.5%) |
| 3 | 7 (4.0%) |
| 4 | 9 (5.1%) |
| 5 | 2 (1.1%) |
| 6 | 0 |
| 7 | 1 (0.6%) |

1.2. Evaluatie van de gevoeligheidsbepalingen

De antibiogrammen van 6 kiemen, *Streptococcus agalactiae* M/5244, *Enterococcus faecium* M/8788, *Corynebacterium jeikeium* M/10101, *Streptococcus pneumoniae* M/10252, *Streptococcus gallolyticus* M/10237 en *Salmonella typhimurium* var. Copenhagen M/10452 werden uitgetest elk tegenover een afzonderlijke reeks antibiotica.

1.2.1. *Streptococcus agalactiae* M/5244

Deze kiem stelde geen grote problemen met betrekking tot het antibiogram.

Wel voerden twee laboratoria geen antibiogram uit maar gaven volgende opmerkingen:

- Voor *S. agalactiae*, verschijnt het volgende commentaar op alle protocols; "Alle *S. agalactiae* zijn gevoelig aan penicilline en aan ampicilline. Gelieve, in geval van penicilline-allergie, binnen de 24 uur contact op te nemen met het laboratorium"
- Voor cultuur M/5244 wordt in routine geen antibiogram ingezet.
Ook twee andere laboratoria, die wel het antibiogram uitvoerden, gaven een opmerking:
 - AB wordt enkel uitgevoerd op aanvraag (bv. Penicilline allergie) en niet in routine op elk isolaat
 - In routine antwoorden wij voor een streptokok van groep B met een commentaar: "De voorkeursbehandeling voor een streptokok van groep is penicilline V. In geval van allergie, geniet clindamycine de voorkeur. Indien noodzakelijk voeren wij op uw aanvraag een antibiogram uit"

Voor gedetailleerde informatie over de identificatiekarakteristieken, routineculturen of cultuur in geval van recto-vaginale screening, de resistentiemechanismen tegen macroliden en hun klinisch belang, verwees het commentaar naar de commentaren van de enquêtes 2005/2 en 2008/1.

Verschillende strategieën worden voorgesteld om **vroegtijdige neonatale infecties te voorkomen**. Momenteel wordt in België, zoals in de Verenigde Staten en vele Europese en Noord-Amerikaanse landen, aangeraden om **een I.V. antibioticaprofylaxe toe te dienen aan risicopatiënten tijdens de bevalling**. Het risico betreft in dit geval de recto-vaginale kolonisatie door GBS die geïdentificeerd werden tijdens een **algemene screening van alle zwangere vrouwen tussen 35 en 37 weken. Penicilline geniet de voorkeur** voor intrapartale profylaxe wegens zijn werkzaamheid en smal spectrum. **Alternatieven** in geval van **penicilline-allergie** zijn: **cefazoline** voor allergische patiëntes met gering anafylactisch risico en **clindamycine** in de andere gevallen. Zoals bij vele *Streptococcus* species, werd een belangrijke stijging van de resistentie tegen clindamycine vastgesteld bij GBS. Het vastgestelde resistentieniveau varieert met de tijd en naargelang de geografische lokalisatie. Profylaxe met clindamycine mag enkel gebeuren op basis van de resultaten van het antibiogram. In geval van **clindamycine-resistentie** is het aanbevolen alternatief **vancomycine**.

Voor de **behandeling van invasieve infecties** van de pasgeborene, volwassene of andere patiënten, blijft **penicilline** de eerste keuze. Empirisch kan een behandeling met een antibioticum met een breder spectrum gestart worden, maar zodra de identificatie de GBS bevestigd is, is penicilline aangewezen voor de verdere behandeling. Dosering en duur van de behandeling zijn afhankelijk van de aard van de infectie.

Asymptomatische kolonisatie moet niet behandeld worden, zelfs niet tijdens de zwangerschap. Maar, als de patiënte zwanger is, moet intrapartale profylaxe voorzien worden.

Een uitgebreide **bespreking van de resistentie en de resistentiemechanismen** tegen de verschillende antibioticaklassen werd opgenomen in het **globaal rapport 2010/1**.

De typering is van groot epidemiologisch belang met name voor het bepalen van de samenstelling van de vaccins die ontwikkeld worden, maar niet voor de behandeling van de individuele patiënt. Omwille van deze epidemiologische surveillance, worden alle laboratoria opgeroepen om hun **isolaten uit invasieve infecties door te sturen naar het nationaal referentiecentrum voor GBS**.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globale rapport 2010/1.

Tabel 1.2.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/5244 (*Streptococcus agalactiae*).

| Antibioticum | Verwachte resultaat | Totaal | S | I | R | * |
|------------------------------|---------------------|--------|-----|---|---|----------------|
| Ampicilline | S | 153 | 153 | - | - | - |
| Amoxicilline ¹ | S | 2 | 2 | - | - | - |
| Penicilline ² | S | 11 | 11 | - | - | - |
| Erythromycine | S | 169 | 162 | 3 | 3 | 1 ³ |
| Clarithromycine ⁴ | S | 2 | 2 | - | - | - |
| Clindamycine | S | 169 | 164 | 2 | 2 | 1 ⁵ |
| Chinolone | | | | | | |
| Ciprofloxacin | S | 40 | 34 | 5 | 1 | - |
| Levofloxacin | S | 71 | 65 | 1 | 5 | - |
| Moxifloxacin | S | 25 | 24 | - | 1 | - |
| Norfloxacin | S | 6 | 2 | 1 | 3 | - |
| Ofloxacin | S | 12 | 11 | 1 | - | - |
| Chinolone ⁶ | S | 4 | 4 | - | - | - |

¹ Twee laboratoria hebben de gevoeligheid voor amoxicilline in plaats van voor ampicilline bepaald.

² Negen laboratoria hebben de gevoeligheid voor penicilline in plaats van voor ampicilline bepaald; twee laboratoria hebben de gevoeligheid voor penicilline en amoxicilline bepaald.

³ Eén laboratorium geeft wel het ruw en expert resultaat (I) maar liet het finaal resultaat open.

⁴ Eén laboratorium heeft de gevoeligheid voor clarithromycine in plaats van voor erythromycine bepaald; één laboratorium heeft de gevoeligheid voor clarithromycine en erythromycine bepaald.

⁵ Eén laboratorium geeft wel het ruw en expert resultaat (I) maar liet het finaal resultaat open.

⁶ Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

1.2.2. *Enterococcus faecium* M/8788

Dit was een multi-resistente kiem, wat ook tot uiting kwam in de opmerkingen die de laboratoria ter zake gaven:

- Van A: 6 labo's
- Van A+, Van B-: 1 labo
- Van A- like: 3 labo's
- Van A waarschijnlijk: 6 labo's
- VRE: 14 labo's
- Glycopeptiden-resistentie: 1 labo
- Een dergelijke multiresistente *E. faecium* uit hemocultuur zouden we doorsturen naar het surveillancelaboratorium UZA Prof. Goossens: 1 labo
- In routine zou voor deze stam linezolid getest en gerapporteerd worden: 1 labo

Dit laatste laboratorium heeft linezolid getest voor staal M/8788 met als resultaat: "S". Twee andere laboratoria hebben zowel linezolid als tigecycline getest met telkens "S" als resultaat.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globale rapport 2010/1. Hierbij moeten we opmerken dat de term "gevoelig ("S")" beschouwd dient te worden als aanwezigheid van synergie van high-level gentamicine met β -lactam antibiotica en/of glycopeptiden. Om redenen van leesbaarheid hebben wij dit in de tabel als "S" weergegeven.

Tabel 1.2.2. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/8788 (*Enterococcus faecium*).

| Antibioticum | Verwachte resultaat | Totaal | S | I | R | * |
|---------------------------|---------------------|--------|-----|---|------------------|----------------|
| Ampicilline | R | 172 | - | - | 172 | - |
| Amoxicilline ¹ | R | 1 | - | - | 1 | - |
| Penicilline ² | R | 1 | - | - | 1 | - |
| Gentamicine | S | 161 | 135 | 5 | 13 ³ | 8 ⁴ |
| Vancomycine | R | 173 | - | - | 172 ⁵ | 1 ⁶ |
| Teicoplanine | R | 136 | - | 4 | 131 | 1 ⁷ |

¹ Eén laboratorium heeft de gevoeligheid voor amoxicilline in plaats van voor ampicilline bepaald.

² Eén laboratorium heeft de gevoeligheid voor penicilline in plaats van voor ampicilline bepaald.

³ Twee laboratoria gaven een verklaring voor hun resultaat R voor gentamicine:

- gezien de kiem ampicilline R is kan gentamicine niet synergistisch werken en dient dus als R geantwoord te worden
- het gebruik van aminoglycosiden berust op het synergisme met β -lactam AB (die hier resistent zijn)

⁴ Acht laboratoria gaven een opmerking als finaal resultaat voor gentamicine:

- één laboratorium antwoordde gentamicine lage dosis als "R" maar gaf in een opmerking aan dat gentamicine hoge dosis "S" is
- één laboratorium antwoordde gentamicine lage dosis als "R" en liet het resultaat van gentamicine hoge dosis open
- één laboratorium antwoordde gentamicine low level resistentie
- één laboratorium antwoordde "afwezigheid van high level aminoglycoside resistentie"
- één laboratorium antwoordde "gentamicine niet getest door het Vitek systeem want natuurlijke resistentie van deze kiem tegen dit antibioticum"
- één laboratorium antwoordde "SYN-S = mogelijke synergie met β -lactam antibiotica en glycopeptiden maar deze synergie zal niet efficiënt zijn want de β -lactam antibiotica, vancomycine en teicoplanine zijn resistent"
- één laboratorium antwoordde een ruw resultaat "I" voor de low level gentamicine doch liet het finale resultaat open met de opmerking "Gezien wij niet beschikken over gentamicine 250 μ g die noodzakelijk is voor de detectie van HLR tegen aminosiden, hebben wij de gentamicine 40

- µg getest (zonder interpretatie). In routine zou deze stam naar een ander laboratorium gestuurd worden voor de bevestiging van het antibiogram met gentamicine 250 µg
- één laboratorium antwoordde een ruw resultaat "R" voor de low level gentamicine doch liet het finale resultaat open met de opmerking "MIC-bepaling aangewezen"
- ⁵ Twee laboratoria gaven een opmerking bij hun resultaat R voor vancomycine:
- MIC moet bepaald worden
 - dit is niet de correcte dosis voor te testen en de MIC moet bepaald worden
- ⁶ Eén laboratorium antwoordde een ruw resultaat "R" doch liet het finale resultaat open met de opmerking "MIC-bepaling aangewezen"
- ⁷ Eén laboratorium antwoordde een ruw resultaat "R" doch liet het finale resultaat open

1.2.3. *Corynebacterium jeikeium* M/10101

Deze kiem werd vanuit didactische redenen verstuurd: zowel omwille van de vraagstelling omtrent de pathogeniciteit van de kiem als omwille van het ontbreken van richtlijnen voor de bepaling van het antibiogram. Van de 173 laboratoria antwoordden er 144 *Corynebacterium jeikeium*. Tien onder hen vermeldden dat deze kiem slechts zelden urineweginfecties veroorzaakt of dat de pathogeniciteit niet bewezen is voor deze oorsprong. Vier van deze laboratoria zouden in routine een controlestaal vragen. Twee van deze tien laboratoria merken op dat in het huidige geval (reincultuur, pyurie +++), de kiem toch vermeld zou worden, al dan niet vergezeld van een opmerking. Zes laboratoria antwoordden *Corynebacterium* species: één onder hen vermeldde dat urease negatief is en stelt de vraag naar de pathogeniciteit. Een ander laboratorium dat *Corynebacterium* species antwoordde, vermeldt uitgesloten te hebben dat het *Corynebacterium urealyticum* betreft en dat verdere species-identificatie en antibiogram derhalve niet nodig zijn. Vier laboratoria antwoordden “afwezigheid van pathogenen”. De overige laboratoria antwoordden andere kiemen.

Twaalf van de laboratoria die tot een identificatie kwamen, voerden geen bepaling van het antibiogram uit. Drie laboratoria die wel de diskdiffusie uitvoerden, antwoordden de diameter, doch zonder interpretatie met de vermelding dat er geen richtlijnen bestaan. Twaalf andere laboratoria die de diskdiffusie uitvoerden, antwoordden de diameter en de interpretatie werd geantwoord maar vermeldden eveneens dat er geen richtlijnen bestaan. Zeven laboratoria vermeldden de richtlijnen voor streptokokken gebruikt te hebben, 5 de richtlijnen voor stafylokokken en één de richtlijnen voor streptokokken en stafylokokken.

Het commentaar betreffende de enquête heeft deze 2 punten nader besproken.

C. jeikeium is een **huidsaprofyt** ter hoogte van de oksels, liesstreek en rectum. Ze wordt zowel uit verschillende klinische stalen als uit het hospitaalmilieu geïsoleerd. De stam is **multiresistent**, ondermeer tegen de β -lactam antibiotica. De enkele percentages van stammen die nog gevoelig zijn voor ampicilline vertonen desalniettemin verhoogde MIC-waarden voor dit antibioticum. De resistentie tegen andere antibiotica-klassen is variabel bij *C. jeikeium*. Deze multiresistentie draagt bij tot de ontwikkeling en selectie van deze bacterie in hospitaalmilieu. Zij zal de clinicus er trouwens toe brengen ernstige infecties door *C. jeikeium* te behandelen met glycopeptiden.

Vanuit klinisch oogpunt is *C. jeikeium* geassocieerd met **verschillende infecties zoals septicemieën en endocarditiden**, met name bij **immuungedepriëerde patiënten** (ernstige neutropenieën) en **patiënten met langdurige hospitalisaties**, situaties die vaak gekenmerkt zijn door het voorschrijven van multipole antibiotica. Zijn **tropisme voor vreemd materiaal** heeft als gevolg dat *C. jeikeium* vaak aan de oorzaak ligt van infecties van sondes, katheters, port-à-cath (PAC), ventriculo-peritoneale verbindingen en gewrichtsprothesen.

De pathogeniciteit van *C. jeikeium* bij urineweginfectie staat op zijn minst niet vast. Zijn multiresistent karakter is verontrustend maar dit betekent niet dat bij isolatie uit urine steeds behandeling opgestart moet worden. De combinatie van “*C. jeikeium* en UTI” (Urinary Tract Infection) levert in « Pubmed » geen enkel artikel op. Een referentie van 1991 die geciteerd wordt in het hoofdstuk over corynebacteriën in “Actualités Permanentes en Bactériologie” vermeldt de frequente isolatie van *C. jeikeium* uit urineculturen van gehospitaliseerde patiënten. De culturen werden enerzijds uitgevoerd op selectieve bodems die antibiotica bevatten wat de groei van deze bacterie bevordert, en anderzijds vertoonden de patiënten bij wie men *C. jeikeium* terug vond geen klinische klachten. Deze studie toont dus geenszins de pathogeniciteit van *C. jeikeium* in urineweginfecties aan maar bewijst wel dat de isolatie ervan uit urine niet

onfrequent is. Bij patiënten met verblijfskatheter en symptomen van urineweginfecties waarbij *C. jeikeium* uit urine geïsoleerd wordt, is verdere investigatie nodig. Ook in geval van een significante reïncultuur en pyurie bij een patiënt zonder verblijfskatheter kan eenzelfde houding gevolgd worden met bv. de afname van een controlestaal.

Derhalve kunnen zowel de **antwoorden *C. jeikeium* als « afwezigheid van pathogenen » beiden aanvaard worden.** Gezien het opsporen van *C. urealyticum*, een goed gekende urinaire pathogeen, duidelijk aangewezen was, zijn de antwoorden *Corynebacterium* sp. onvoldoende tenzij de laboratoria *C. urealyticum* uitgesloten hebben. Bijgevolg hebben 87% van de laboratoria de identificatie correct geantwoord.

Nagenoeg alle laboratoria die een antibiogram uitgevoerd hebben, hebben het multiresistente karakter van de kiem, die enkel voor vancomycine gevoelig was, aangetoond. Enkele laboratoria hebben terecht geen antibiogram uitgevoerd, niet enkel omwille van de hierboven aangehaalde redenen maar ook omdat er geen richtlijnen bestaan. En inderdaad, **de enige bestaande richtlijnen zijn deze van de CLSI voor *Corynebacterium* spp**, die de breekpuntconcentraties vastleggen voor de antibiogrammen die met microdilutie bepaald worden. **Sommige breekpuntconcentraties zijn specifiek voor de corynebacteriën (peni, erythro), andere zijn aangepast uitgaande van deze voor streptokokken (cefalosporines), enterokokken (linezolid) en stafylokokken (andere antibiotica).** Dit verklaart de (niet orthodoxe maar zeker niet af te keuren) werkwijze van **vele laboratoria voor corynebacteriën een antibiogram uitvoeren voor de antibiotica die ze normaal uittesten voor strepto- en/of stafylokokken.** De meeste laboratoria maken gebruik van de diffusietechniek. De bepaling van de MIC-waarde is echter duidelijk aangewezen in geval van ernstige infecties door *C. jeikeium* zelfs als dit betekent dat de kiem naar een ander laboratorium moet doorgestuurd worden.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2010/2.

Tabel 1.2.3. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/10101 (*Corynebacterium jeikeium*).

| Antibioticum | Verwachte resultaat | Totaal | S | I | R | * |
|------------------------------|---------------------|--------|-----|---|-----|--------------------|
| Penicilline | R | 149 | - | - | 146 | 3 ¹ |
| Oxacilline | R | 124 | 2 | - | 118 | 4 ^{1,2} |
| Amoxicilline-clavulaanzuur | R | 132 | - | - | 128 | 4 ^{1,2} |
| Erythromycine | R | 147 | 4 | 4 | 134 | 5 ^{1,2,3} |
| Clarithromycine ⁴ | R | 2 | - | - | 2 | - |
| Clindamycine | R | 142 | - | - | 138 | 4 ^{1,2} |
| Gentamicine | R | 124 | 1 | - | 119 | 4 ^{1,2} |
| Vancomycine | S | 149 | 144 | - | 2 | 3 ¹ |
| Chinolone | | | | | | |
| Ciprofloxacin | R | 78 | - | - | 76 | 2 ¹ |
| Levofloxacin | R | 27 | - | - | 27 | - |
| Moxifloxacin | R | 10 | - | - | 9 | 1 ¹ |
| Norfloxacin | R | 15 | 1 | - | 14 | - |
| Ofloxacin | R | 20 | - | - | 20 | - |

¹ Drie laboratoria hebben voor een aantal antibiotica de disk-diffusie uitgevoerd; voor al de antibiotica die ze getest hebben, hebben ze wel de diameter geantwoord maar niet de interpretatie.

² Eén laboratorium heeft voor de antibiotica waarvoor ze de disk-diffusie uitvoerden wel de diameter geantwoord maar niet de interpretatie. Voor penicilline, vancomycine en ciprofloxacin gebruikte dit laboratorium de E-test en antwoordde zowel het kwantitatief resultaat als de interpretatie.

³ Eén laboratorium heeft voor erythromycine wel de diameter (15 mm.) geantwoord maar niet de interpretatie. Voor alle andere antibiotica antwoordde dit laboratorium zowel het kwantitatief resultaat als de interpretatie.

⁴ Twee laboratoria hebben de gevoeligheid voor clarithromycine in plaats van voor erythromycine bepaald.

1.2.4. *Streptococcus pneumoniae* M/10252

Deze stam was een *Streptococcus pneumoniae* die gevoelig was voor penicilline en chinolones (levofloxacin, moxifloxacin, ofloxacin) en resistent was tegen erythromycine, clindamicine en tetracycline. Opvallend was dat de Vitek 2 en Vitek 2 compact enige moeite hadden om de erythromycine-resistentie in het licht te stellen.

Omwillen van deze reden, hebben wij de stam aan bioMérieux bezorgd voor verder onderzoek.

Het besluit van hun onderzoek was:

“Verwacht resultaat ERY (R).

Het MIC-interval op de kaarten is beperkt voor een resistent resultaat (≥ 1 mg/L).

We stelden een “minor discrepancy” vast met de oude formulering (AST-P533) en een MIC voor ERY die te laag is in vergelijking met de referentie MIC.

Met de nieuwe formulering echter, wordt de resistentie goed gedetecteerd (kaart AST –P576 vervangt kaart AST-P533 en AST-GP68 vervangt de kaarten GP62 & GP65)”

Het commentaar vermeldde dat de grote variatie aan fluoroquinolones die in de Belgische laboratoria uitgetest worden opvallend was. Een eerste vaststelling is dat een “algemeen antwoord” voor de familie fluoroquinolones niet volstaat aangezien de breekpuntconcentraties verschillend zijn voor de diverse fluoroquinolones. Een tweede vaststelling is dat men **een fluoroquinolone moet uittesten waarvoor breekpunt-concentraties door CLSI of EUCAST vastgelegd werden**. CLSI heeft bijvoorbeeld geen breekpuntconcentraties voor ciprofloxacin en norfloxacin. EUCAST heeft geen breekpuntconcentraties voor gatifloxacin, norfloxacin en sparfloxacin. In het globaal rapport 2010/2 kan u een tabel terugvinden met een overzicht van de antibiotica en de breekpuntconcentraties voor CLSI en EUCAST bij het uittesten van *S. pneumoniae*.

Het commentaar benadrukte dat de resultaten voor penicilline uitstekend waren, ongeacht de gebruikte methode. Belangrijk is wel de juiste criteria te gebruiken: voor ‘niet-meningitisstammen’ hanteert de CLSI als breekpuntconcentratie voor gevoelig aan penicilline ≤ 2 mg/L. EUCAST gebruikt hetzelfde criterium voor ‘pneumoniestammen’ op voorwaarde dat patiënt behandeld wordt met een dagdosis van minstens 6x 2.4 g penicilline. **Rapportering van het resultaat voor penicilline volgens de huidige breekpunt-concentraties moet aangemoedigd worden** omdat dit bijdraagt tot het frequenter voorschrijven van penicilline en amoxicilline met sparen van de derde generatie cefalosporines en respiratoire fluoroquinolones.

De resistentie tegen erythromycine, clindamycine en tetracycline werd correct opgespoord door de gebruikers van papieren schijfjes en Neosensitabs (klassieke en nieuwe ladingen). Zes laboratoria bepaalden ook de MIC waarde voor erythromycine met de E-test en bekwamen een correct resultaat. **Bij de Vitek 2 en zeker bij de Vitek 2 compact** gebruikers werd **voor het erythromycine-resultaat een groot probleem** vastgesteld. Veertien dan de 40 Vitek 2 en 9 van de 17 Vitek 2 compact gebruikers rapporteren deze erythromycine resistente stam als gevoelig (very-major fout) of intermediair gevoelig.

Tevens vermeldde het commentaar in het kort de gegevens ivm de **evolutie van de resistentie tegen antibiotica** voor *S. pneumoniae* in België. In vergelijking met 2000 het jaar met de hoogste resistentiepercentages zien we een **gunstige kentering tijdens de voorbije jaren**. De gunstige evolutie van deze resistentie kan wellicht verklaard worden door een combinatie van verschillende factoren

waaronder de significante reductie in het antibioticumverbruik – vooral in de ambulante praktijk – en de systematische vaccinatie van zuigelingen met het 7-valent geconjugerd vaccin.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2010/2.

Tabel 1.2.4.: Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/10252 (*Streptococcus pneumoniae*).

| Antibioticum | Verwachte resultaat | Totaal | S | I | R |
|------------------------------|---------------------|--------|-----|----|-----|
| Penicilline | S | 167 | 163 | 3 | 1 |
| Erythromycine | R | 166 | 7 | 13 | 146 |
| Clarithromycine ¹ | R | 5 | - | - | 5 |
| Clindamycine | R | 121 | 7 | 5 | 109 |
| Tetracycline | R | 140 | 7 | 6 | 127 |
| Doxycycline ² | R | 17 | 3 | 3 | 11 |
| Chinolone | | | | | |
| Ciprofloxacin | NA | 20 | 16 | 4 | - |
| Gatifloxacin | | 1 | 1 | - | - |
| Levofloxacin | S | 45 | 45 | - | - |
| Moxifloxacin | S | 68 | 68 | - | - |
| Norfloxacin | NA | 5 | 4 | - | 1 |
| Ofloxacin | S | 25 | 24 | - | 1 |
| Sparfloxacin | | 1 | 1 | - | - |
| Chinolone ³ | | 10 | 9 | - | 1 |

NA: Niet Aangewezen voor *S. pneumoniae*

¹ Vier laboratoria hebben de gevoeligheid voor clarithromycine in plaats van voor erythromycine bepaald; één laboratorium heeft de gevoeligheid voor clarithromycine en erythromycine bepaald.

² Een aantal laboratoria hebben de gevoeligheid voor doxycycline in plaats van voor tetracycline bepaald

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

1.2.5. *Streptococcus gallolyticus* M/10237

Deze stam was gevoelig voor de meeste antibiotica; het antibiogram stelde derhalve weinig problemen voor de meeste laboratoria. Een aantal laboratoria vermeldde wel de noodzaak voor een MIC-bepaling.

Het begeleidende commentaar vermeldde dat deze kiem bijna steeds gevoelig is aan penicilline. Het commentaar vermeldde eveneens dat we voor de behandeling van endocarditis nauwkeuriger zijn moeten en dat de MIC waarde van belang is voor de juiste keuze van antibiotica combinaties en duur van de behandeling. Wij herhalen hieronder het schema dat aanbevolen wordt door de American heart association (en verder uitgebreid in de Sanford guide). Een kortere therapieduur kan natuurlijk bij afwezigheid van endocarditis en opsporen van een intestinale pathologie wordt ook aanbevolen.

MIC ≤ 0.12

B-lactam (PenG of Ceftriaxone) + aminoside: 2 weken

B-lactam alleen: 4 weken (> 65, of verminderde nierfunctie, of schade gehoorzenuw)

0.5 > MIC > 0.12

B-lactam 4 weken + gentamicine 2 weken

B-lactam 6 weken + gentamicine 2 weken bij kunstklep

MIC > 0.5 (en gevoelig)

Ampicilline of penicilline 4 – 6 weken + gentamicine 2 weken

Intolerantie voor B-lactams:

vancomycine 4 weken, en tot 6 weken voor kunstklep

verdere modificatie gebaseerd op tijdsduur van infectie voor de diagnose: 4 weken indien < 3 maand, te verlengen tot 6 weken bij een tijdsduur van > 3 maand

Het **testen voor high –level resistentie tegenover aminosiden** is een duidelijke noodzaak bij endocarditis met enterokokken; als er een high-level resistentie aanwezig is, kan geen combinatie van een penicilline met een aminoside worden aanbevolen. Deze vorm van resistentie is vermoedelijk heel weinig frequent voor het ogenblik in *S. viridans* en *S. gallolyticus*, er zijn geen duidelijke technische richtlijnen in de CLSI en de EUCAST richtlijnen, maar **wellicht wordt het in de toekomst zinnig** deze resistentie detectie ook in te voeren voor deze species.

Onderstaande tabel met de resultaten van de EKE werd gepubliceerd in het globaal rapport 2010/3.

Tabel 1.2.5.: Resultaten van het antibiogram van M/10237 (*Streptococcus gallolyticus*).

| Antibioticum | Verwachte resultaat | Totaal | S | I | R | * |
|---|---------------------|--------|------------------|----|---|----------------|
| Penicilline | S | 164 | 135 ¹ | 21 | 1 | 7 ² |
| Vancomycine | S | 161 | 159 ³ | - | - | 1 ⁴ |
| Cefalosporines 3 ^e generatie | | | | | | |
| Ceftazidime | S | 19 | 18 | - | - | 1 ⁵ |
| Ceftriaxone | S | 54 | 49 ⁶ | 1 | 1 | 3 ⁷ |
| Cefotaxime | S | 76 | 72 | - | 3 | 1 ⁸ |
| Cefepime | S | 2 | 2 | - | - | - |
| Cefixime | | 1 | - | - | 1 | - |
| Cefalosporine 3 ^e generatie ⁹ | S | 4 | 4 | - | - | - |

¹ Twee laboratoria raadden wel aan dit resultaat te bevestigen met een MIC-bepaling.

² Zes laboratoria vermeldden dat een MIC-bepaling (die ze zelf niet uitvoeren) noodzakelijk is. Eén laboratorium (met een resultaat 0.185 mg/L voor de MICE) antwoordde: "dosage antibioticum wordt aangepast in functie MIC".

³ Eén laboratorium raadde wel aan dit resultaat te bevestigen met een MIC-bepaling.

⁴ Eén laboratorium vermeldde dat een MIC-bepaling (die het zelf niet uitvoert) noodzakelijk is.

⁵ Eén laboratorium vermeldde dat een MIC-bepaling (die het zelf niet uitvoert) noodzakelijk is.

⁶ Eén laboratorium raadde wel aan dit resultaat te bevestigen met een MIC-bepaling.

⁷ Eén laboratorium vermeldde dat een MIC-bepaling (die het zelf niet uitvoert) noodzakelijk is.

Een tweede laboratorium vermeldde dat de gevoeligheid voor de cefalosporines afhankelijk is van de gevoeligheid voor penicilline (waarvoor een MIC-bepaling, die het niet zelf uitvoert, noodzakelijk is). Een derde laboratorium (met een resultaat 0.75 mg/L voor de MICE) antwoordde: "dosage antibioticum wordt aangepast in functie MIC".

⁸ Eén laboratorium vermeldde dat de gevoeligheid voor de cefalosporines afhankelijk is van de gevoeligheid voor penicilline (waarvoor een MIC-bepaling, die het niet zelf uitvoert, noodzakelijk is).

⁹ Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte cefalosporine niet.

1.2.6. *Salmonella typhimurium* var. Copenhagen M/10452

Dit betrof een kiem, afkomstig uit een hemocultuur, was nalidixinezuur-resistent, met als gevolg dat ook de fluoroquinolones als resistent beschouwd dienden te worden. Tevens was de kiem drager van een ESBL.

75 laboratoria hebben de aanwezigheid van de ESBL vermeld. 7 laboratoria vermeldden de gevoeligheid voor de fluoroquinolones niet te kunnen beoordelen daar zij geen antibiogram voor nalidixinezuur uitvoeren. 21 laboratoria vermeldden een verminderde gevoeligheid voor de fluoroquinolones op basis van de nalidixinezuurresistentie

Het begeleidende commentaar vermeldde dat de **richtlijnen van de CLSI** handleiding (M100-S20) aanraden in geval van isolaten uit feces om antibiotica gevoeligheid te testen voor **ampicilline, trimethoprim-sulphamethoxazole en een fluoroquinolone**. Voor **extra-intestinale isolaten** wordt tevens aangeraden een **derde generatie cefalosporine** te testen.

Stam M/10452 was resistent aan derde generatie cefalosporine antibiotica en produceerde een Extended-Spectrum Beta-lactamase (ESBL). De resultaten van het comité van experts duiden op een MIC voor cefotaxime en ceftriaxone van 4 mg/l voor beide antibiotica. Identificatie op moleculair niveau (Prof. Youri Glupczynski) toonde het SHV-2 like gen aan (ESBL DNA low-density array, Check-Points, Wageningen, Nederland).

De nieuwe interpretatieve criteria van de CLSI handleiding (M100-S20) en de EUCAST richtlijnen ondervangen de noodzaak om te testen voor ESBL productie – overigens was de aanbeveling van de vorige CLSI handleiding om ESBL productie op te sporen beperkt tot *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. en *Proteus* spp. Een deel van de rapporten “gevoelig” voor derde generatie cefalosporines bij het gebruik van disks kan verklaard worden doordat de oude CLSI criteria gebruikt werden.

Bovendien vertoonde stam M/10452 resistentie tegen chinolone antibiotica zoals ciprofloxacin, moxifloxacin en levofloxacin. De resultaten van het comité van experts toonden een MIC waarde voor ciprofloxacin van 0.5 mg/l.

De CLSI breekpunten van ciprofloxacin voor *Enterobacteriaceae* zijn ≤ 1 mg/l en ≥ 4 (dus > 2) mg/l, deze van EUCAST zijn ≤ 0.5 mg/l en > 1 mg/l). Klinische observaties toonden aan dat sommige patiënten met buiktyfus niet goed reageerden op behandeling met fluoroquinolone antibiotica, ondanks schijnbare *in-vitro* gevoeligheid. Deze isolaten bleken een zogenaamde “decreased ciprofloxacin susceptibility” te vertonen (“DCS”), met MIC waarden tussen 0.125 mg/l en 1.0 mg/l. Het mechanisme van resistentie berust op een puntmutatie in het *gyrA* gen, waardoor een aminozuur substitutie plaatsgrijpt in het bacteriële DNA-gyrase dat het aangrijpingspunt vormt van de fluoroquinolone antibiotica. Verminderde gevoeligheid voor fluoroquinolone antibiotica kan met goede accurateheid aangetoond worden door middel van resistentie tegen nalidixinezuur, een voorloper van de fluoroquinolone antibiotica. Isolaten die resistentie vertonen tegen nalidixinezuur worden aangeduid als “nalidixic acid resistant S. Typhi” kortweg “NARST”. Een klein aandeel van de “DCS” stammen kan echter niet door middel van de nalidixinezuur resistentiebepaling opgespoord worden.

De **CLSI** handleiding beveelt aldus aan om bij **extra-intestinale isolaten** de **gevoeligheid voor nalidixinezuur te bepalen en in geval van resistentie de clinicus te informeren over het potentieel falen van fluoroquinolone antibiotica**. De **EUCAST** richtlijnen vermeldden het alternatief van nalidixinezuur gevoeligheidsbepaling in de vroegere versies maar schraptten dit in versie 1.2 van december 2010, en vulden deze aan met de **“low-level fluoroquinolone**

resistance”, gedefinieerd als een MIC voor ciprofloxacin > 0.064 mg/l. Hiervoor is het dus nodig een MIC bepaling voor ciprofloxacin te bepalen, welke met E-strips of gelijkaardige strips kan uitgevoerd worden.

Onderstaande tabel geeft deze verschillende benadering door CLSI en EUCAST schematisch weer.

Tabel 1.2.6. Verminderde gevoeligheid van *Salmonella* spp. aan fluoroquinolone antibiotica, benadering door CLSI handleiding en EUCAST richtlijnen

| CLSI M100-S20 | EUCAST |
|--|---|
| MIC-waarde Ciprofloxacin voor Enterobacteriaceae: ≤ 1 mg/l en ≥ 4 mg/l (> 2 mg/l) | MIC-waarde Ciprofloxacin voor Enterobacteriaceae: ≤ 0.5 mg/l en > 2 mg/l |
| Bepaal Nalidixinezuur resistentie als test voor "reduced fluoroquinolone susceptibility" bij extraintestinale infecties met <i>Salmonella</i> spp. | "Low level fluoroquinolone resistance" van <i>Salmonella</i> spp. bij ciprofloxacin MIC waarde > 0.064 mg/l |

Tabel 1.2.7. geeft een overzicht van de resultaten die door de deelnemers bekomen werden en werd gepubliceerd in het globaal rapport 2010/3.

Tabel 1.2.7.: Resultaten van het antibiogram van M/10452 (*Salmonella* Typhimurium var. Copenhagen)

| Antibioticum | Verwachte resultaat | Totaal | S | I | R | * |
|---|---------------------|--------|-----------------|---|-----|----------------|
| Nalidixinezuur | R | 112 | - | - | 112 | - |
| Ampicilline | R | 164 | - | - | 162 | 2 ¹ |
| Cefalosporines 3 ^e generatie | | | | | | |
| Cefotaxime | R | 86 | 5 | 7 | 74 | - |
| Ceftazidime | R | 58 | 8 | 4 | 46 | - |
| Ceftriaxone | R | 34 | 1 | 7 | 24 | 2 ² |
| Cefepime | R | 1 | - | - | 1 | - |
| Cefalosporine 3 ^e generatie ³ | R | 5 | 1 | - | 4 | - |
| Fluoroquinolones | | | | | | |
| Ciprofloxacin | | 131 | 38 ⁴ | 8 | 79 | 6 ⁵ |
| Levofloxacin | | 25 | 10 | - | 15 | - |
| Moxifloxacin | | 1 | - | - | - | 1 ⁶ |
| Norfloxacin | | 11 | 3 | - | 7 | 1 ⁷ |
| Ofloxacin | | 6 | 3 ⁸ | 1 | - | 2 ⁹ |
| Fluoroquinolone ¹⁰ | | 2 | - | - | 2 | - |

¹ Eén laboratorium antwoordde wel de diameter en het ruw resultaat ("R") maar geen finaal resultaat. Eén laboratorium vermeldde dat een MIC-bepaling noodzakelijk is.

- ² Eén laboratorium antwoordde wel de diameter en het ruw resultaat ("R") maar geen finaal resultaat. Eén laboratorium vermeldde dat een MIC-bepaling noodzakelijk is.
- ³ Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte cefalosporine niet.
- ⁴ Een aantal laboratoria voorzag het antwoord "S" van een opmerking:
- nalidixinezuur is resistent:→mogelijk verminderde ciprofloxacinegevoeligheid: →eradicatie kan onvolledig zijn
 - resultaat van ciprofloxacine onder voorbehoud want nog geen resultaat voor nalidixinezuur (wordt in routine doorgestuurd) en extra-intestinaal isolaat
 - nalidixinezuur resistent:→ telefonisch contact met clinicus voor bespreking van behandeling
 - nalidixinezuur zou verminderde gevoeligheid in vivo van ciprofloxacine kunnen voorspellen maar wordt in routine in labo niet getest
 - risico op therapie falen in geval van behandeling met fluorochinolones
- ⁵ Vijf laboratoria vermeldden dat het resultaat van nalidixinezuur (dat ze zelf niet testen) noodzakelijk is om de gevoeligheid/resistentie van de fluorochinolones te kunnen antwoorden. Eén laboratorium vermeldde dat een MIC-bepaling noodzakelijk is.
- ⁶ Eén laboratorium vermeldde dat het resultaat van nalidixinezuur (dat het zelf niet test) noodzakelijk is om de gevoeligheid/resistentie van de fluorochinolones te kunnen antwoorden.
- ⁷ Eén laboratorium vermeldde dat het resultaat van nalidixinezuur (dat het zelf niet test) noodzakelijk is om de gevoeligheid/resistentie van de fluorochinolones te kunnen antwoorden.
- ⁸ Eén laboratorium vermeldde dat nalidixinezuur resistent is:→in vivo verminderde gevoeligheid voor fluorochinolones (MIC-bepaling noodzakelijk).
- ⁹ Twee laboratoria vermeldden dat het resultaat van nalidixinezuur (dat ze zelf niet testen) noodzakelijk is om de gevoeligheid/resistentie van de fluorochinolones te kunnen antwoorden.
- ¹⁰ Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte fluorochinolone niet.

II. PARASITOLOGIE

Er werden in 2010 drie enquêtes voor de evaluatie van het parasitologisch onderzoek georganiseerd.

2.1. Enquête 1

Er werden 2 fecessuspensies in formol verstuurd: P/7374 en P/9839
169 laboratoria namen deel aan deze enquête.

Staal P/7374 bevatte eieren van *Hymenolepis nana*.

Hymenolepis nana (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd geantwoord door 164 (97.0%) laboratoria. De eieren werden teruggevonden door 157 (95.7%) deelnemers.

Staal P/9839 bevatte oöcysten van *Cryptosporidium parvum*.

Cryptosporidium parvum (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd geantwoord door 154 (91.1%) laboratoria. De oöcysten werden teruggevonden door 124 (80.5%) deelnemers.

In het commentaar op de enquête werden, naast de levenscyclus, symptomatologie en epidemiologie van de Cryptosporidia eveneens de laboratoriumdiagnostiek beschreven. De **routinediagnostiek** is gebaseerd op het **aantonen van oöcysten in stoelgangstalen** of intestinale biopsiën met de microscoop of door het opsporen van het antigen. Het microscopisch onderzoek wordt uitgevoerd **na concentratie van de stoelgang**. Hoewel de oöcysten zonder kleuring herkend kunnen worden, gebeurt de microscopische diagnostiek meestal door gebruik te maken van de **Ziehl-Neelsen techniek**, gewijzigd door Henriksen en Pohlenz, die de oöcysten aantoonst als afgeronde of ovale elementen met een diameter van 4 à 6 µm in functie van het species, en een **helrode kleur** tegen de blauwe achtergrond van de tegenkleuring. De **kleuring op basis van auramine-fenol** wordt eveneens gebruikt. De oöcysten hebben een ronde of ovoïde vorm en vertonen een karakteristieke heldere **appelgroene fluorescentie** tegen een donkere achtergrond. Recentelijk werden methoden voor de detectie van de nucleïne-zuren ontworpen. Deze zijn vaak gevoeliger dan de microscopische en immunologische methoden voor het opsporen van de oöcysten in de feces, doch blijven meestal beperkt tot gespecialiseerde laboratoria en kunnen nuttig zijn in het kader van een epidemie.

2.2. Enquête 2

Er werd 1 bloeduitstrijkje (P/9405) verstuurd en één weefselparasiet (P/9274) werd onder vorm van foto's op de website voorgesteld.

177 laboratoria namen deel aan de enquête voor de bloedparasiet en 173 aan de enquête voor de weefselparasiet.

De foto's van staal P/9274 toonden een cyste en scolices van *Echinococcus granulosus*. *Echinococcus granulosus* werd herkend door 170 (98.3%) laboratoria; de overige 3 antwoordden *Echinococcus multilocularis*. 82 laboratoria vermeldden de cyste; 74 de scolices

Het commentaar op de enquête gaf een beschrijving van de verschillende macroscopische en microscopische structuren, welke in de **parasitologische diagnose** geïdentificeerd kunnen worden (**hydatidecyste, scolices, haakjes**,...). De **laboratoriumdiagnose** is echter **hoofdzakelijk** gebaseerd op **serologie**, welke uitgevoerd wordt in het Instituut voor Tropische Geneeskunde te Antwerpen. Het commentaar beschreef eveneens de levenscyclus en behandeling.

Staal P/9405 bevatte trofozoïeten, schizonten en gametocyten van *Plasmodium ovale*. *Plasmodium ovale* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd geantwoord door 74 (41.8%) laboratoria. 43 (24.3%) hebben *Plasmodium non-falciparum* geantwoord en 19 (10.7%) *Plasmodium species*. 36 (20.3%) laboratoria hebben één van beide andere *Plasmodium non-falciparum* voorgesteld als identificatie.

Voor *Plasmodium ovale* werden de trofozoïeten teruggevonden door 71 (95.9%) deelnemers, de schizonten door 60 (81.1%) en de gametocyten door 23 (31.1%) deelnemers.

In het commentaar op de enquête werd het belang van het kunnen onderscheiden van *P. falciparum* en de andere species nogmaals benadrukt. Als 'major error' wordt beschouwd het missen van een *P. falciparum*, het verkeerdelijk antwoorden van een *P. falciparum* en het zich niet uitspreken over de al dan niet aanwezigheid van een *P. falciparum* (antwoorden van *Plasmodium species*). De reden daarvoor is de therapeutische aanpak die verschilt bij een infectie met *P. falciparum* zowel naar de keuze van producten als naar dringendheid toe.

2.3. Enquête 3

Er werden 2 fecessuspensies in formol verstuurd: P/10417 en P/10603.
163 laboratoria namen deel aan deze enquête.

Staal P/10417 bevatte eieren van *Schistosoma mansoni*.

Schistosoma mansoni (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd teruggevonden door 139 (85.3%) laboratoria. De eieren werden door 136 deelnemers vermeld.

Het commentaar over de enquête beschreef de geografische verspreiding van de verschillende *Schistosoma* species, een beknopte levenscyclus en de eieren van de verschillende *Schistosoma* species (de verschillen tussen de eieren laten de speciesidentificatie toe).

Staal P/10603 was negatief en bevatte geen parasieten .

145 (89.0%) laboratoria antwoordden "afwezigheid van parasieten". 3 (1.8%) laboratoria hebben beide stalen verwisseld. 14 (8.6%) laboratoria rapporteerden de aanwezigheid van 1 parasiet en 1 (0.6%) laboratorium de aanwezigheid van 2 parasieten.

Dit staal werd reeds verstuurd in de enquête 2007/1 onder nummer P/7255 en in de enquête 2006/1 onder nummer P/6695.

Onderstaande tabel toont de vergelijking van de resultaten van deze 3 enquêtes.

Tabel 2.2. Vergelijking van de resultaten voor staal P/10603 (2010/3), P/7255 (2007/1) en P/6695 (2006/1) (negatief staal)

| Staalnummer (enquête) | % labo's met resultaat "negatief" |
|-----------------------|-----------------------------------|
| P/10603 (2010/3) | 89.0% |
| P/7255 (2007/1) | 92.1% |
| P/6695 (2006/1) | 86.8% |

2.4. Gebruik van de Toolkit

Het aantal antwoorden via geïnfomatiseerde weg (Toolkit) bedroeg respectievelijk 49.7%, 63.8% en 49.7% voor elk der 3 enquêtes.

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

2.5. Malaria sneltesten

In 2010 werden eveneens 3 stalen verstuurd voor het opsporen van het malaria antigeen. Deze stalen bestonden uit EDTA – bloed dat bewaard werd bij – 70°C en dus gehemolyseerd was; dit had echter geen merkbare invloed op de stabiliteit van de *Plasmodium* antigenen.

De stalen werden geleverd door het referentiecentrum, het Instituut voor Tropische Geneeskunde (Antwerpen).

De verwachte resultaten (gebaseerd op de resultaten van het referentiecentrum) waren:

P/10085 *P. falciparum* (een menginfectie met *P. vivax*, *P. ovale* of *P. malariae* kan niet uitgesloten worden).

P/10086 Negatief

P/10087 *P. vivax* of *P. ovale* of *P. malariae* of een menginfectie met *P. vivax* en/of *P. ovale* en/of *P. malariae*

Honderdachtentwintig laboratoria hebben aan deze enquête deelgenomen. Behalve het referentiecentrum en één laboratorium dat ene routinekit en een kit in testfase in huis had, voerden de meeste laboratoria één bepaling per staal uit.

De meest gebruikte kits waren: Binax Now malaria (Alere Health) (41.5%), Palutop 4+ (All Diag) (20.0%), OptiMAL-IT (Diamed) (16.2%), Care Start Malaria (AccessBio) (9.2%) en S.D. Biotec Malaria Ag P.f./Pan (Standard Diagnostics) (9.2%).

De antwoorden per staal kunnen als volgt samengevat worden

Tabel 2.5.1. Resultaten per laboratorium voor staal P/10085 (samenvatting).

| Resultaat | N labo's |
|---|------------|
| Positief resultaat voor <i>Plasmodium falciparum</i> (Een menginfectie kan niet uitgesloten worden) (verschillende varianten op dit antwoord mogelijk) | 57 |
| Positief <i>Plasmodium</i> spp. en positief <i>Plasmodium falciparum</i> | 3 |
| <i>Plasmodium falciparum</i> Ag: positief - <i>Plasmodium vivax</i> Ag: negatief. | 1 |
| Positief voor <i>Plasmodium falciparum</i> (verschillende varianten op dit antwoord mogelijk) | 42 |
| <i>Plasmodium</i> Ag positief (verschillende varianten op dit antwoord mogelijk) | 8 |
| Positief (verschillende varianten op dit antwoord mogelijk) | 11 |
| <i>Plasmodium</i> sp (<i>vivax</i> , <i>ovale</i> , <i>malariae</i>) (verschillende varianten op dit antwoord mogelijk) | 2 |
| Kit 1: Antigeentest positief voor <i>Plasmodium falciparum</i> . Mogelijk menginfectie van <i>Plasmodium falciparum</i> met een <i>P. ovale</i> , <i>P. malariae</i> of <i>P. vivax</i> . Kit 2: <i>P. falciparum</i> | 1 |
| Antwoord op basis van de microscopie | 2 |
| Geen antwoord | 1 |
| Totaal | 128 |

Tabel 2.5.2. Resultaten per laboratorium voor staal P/10086 (samenvatting).

| Resultaat | N labo's |
|--|------------|
| Negatief (verschillende varianten op dit antwoord mogelijk) | 119 |
| Negatief voor <i>P. falciparum</i> en <i>P. vivax</i> . | 2 |
| Negatief voor <i>P. falciparum</i> . | 1 |
| Kit 1: Antigeentest negatief voor <i>Plasmodium falciparum</i> , <i>Plasmodium ovale</i> , <i>Plasmodium malariae</i> en <i>Plasmodium vivax</i> . Kit 2: Negatief | 1 |
| <i>Plasmodium falciparum</i> . Als de microscopische beelden typisch zijn. Als men volgend commentaar toevoegt: "de mogelijkheid van een menginfectie met <i>Plasmodium vivax</i> , <i>ovale</i> , <i>malariae</i> kan niet uitgesloten worden". | 1 |
| Antwoord op basis van de microscopie | 2 |
| Geen antwoord | 2 |
| Totaal | 128 |

Tabel 2.5.3. Resultaten per laboratorium voor staal P/10087 (samenvatting).

| Resultaat | N labo's |
|---|------------|
| Routinekits: Positief resultaat voor <i>P.vivax</i> of <i>P.ovale</i> of <i>P.malariae</i> of een menginfectie met <i>P.vivax</i> en/of <i>P.ovale</i> en/of <i>P.malariae</i> . Kit specifiek voor <i>P. vivax</i> : Positief voor <i>Plasmodium vivax</i> . | 1 |
| Kit 1: Antigeentest negatief voor <i>Plasmodium falciparum</i> , <i>Plasmodium ovale</i> , <i>Plasmodium malariae</i> en <i>Plasmodium vivax</i> . Kit 2: Positief voor <i>Plasmodium vivax</i> . | 1 |
| Positief voor <i>Plasmodium vivax</i> (verschillende varianten op dit antwoord mogelijk) | 30 |
| Positief voor <i>Plasmodium non-falciparum</i> (verschillende varianten op dit antwoord mogelijk) | 29 |
| Positief voor <i>Plasmodium species</i> (verschillende varianten op dit antwoord mogelijk) | 9 |
| Positief (verschillende varianten op dit antwoord mogelijk) | 4 |
| Negatief (verschillende varianten op dit antwoord mogelijk) | 49 |
| Negatief voor <i>P. falciparum</i> . | 1 |
| Antwoord op basis van de microscopie | 2 |
| Geen antwoord | 2 |
| Totaal | 128 |

Alle negatieve resultaten voor dit staal zijn bekomen met de kit Binax Now malaria. Deze kit leverde geen enkel positief resultaat op voor dit staal: ook de laboratoria die deze kit gebruikten en voor het antwoord aan de clinicus naar de microscopie verwezen of het antwoord aan de clinicus open lieten, bekwamen negatieve “bandjes” voor deze kit.

Naast de eigenlijke enquête werd eveneens een vragenlijst verstuurd waarin naar gevraagd werd naar het gebruik en de indicaties van de malaria sneltesten in 2010 in de laboratoria. De antwoorden op deze vragenlijst kan u terugvinden in het globale rapport 2010/2.

Het commentaar op deze enquête ging vooreerst in op de definitie en het werkingsmechanisme Malaria Sneltesten (Malaria Rapid Diagnostic Tests, MRDT). Vervolgens werden de resultaten en interpretaties voor de verschillende stalen geanalyseerd en besproken; hierbij werd eveneens de relatie gelegd naar de informatie die op bijsluiters gepubliceerd wordt; ook de gevoeligheden van de verschillende MRDT werden besproken. Tenslotte analyseerde het commentaar de antwoorden op de vragenlijst. U kan dit uitgebreide commentaar terugvinden op onze website: http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/ nl/rapports_2010.htm

III. INFECTIEUZE SEROLOGIE

In 2010 werden serologische parameters voor Rubella, Syfilis, HAV, toxoplasma, HCV, HBV en HIV geëvalueerd. Het aantal deelnemers varieerde afhankelijk van de geëvalueerde parameter. Tijdens de tweede enquête werden eveneens urinestalen opgestuurd voor de bepaling van het Legionella antigen.

3.1. Rubella

Er werden 2 gelyofiliseerde plasmamonsters verstuurd, S/9769 en S/9770 waarop antistoffen tegen Rubella bepaald dienden te worden. De interpretatie omvatte een beoordeling van beide stalen.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

“Zwangerschapswens bij patiënte die gevaccineerd werd. De stalen S/9769 en S/9770 werden afgenomen respectievelijk 1 en 2 maanden na de vaccinatie.”

De verwachte resultaten en interpretaties waren:

S/9769: IgG positief, IgM positief

S/9770: IgG positief, IgM negatief

Interpretatie:

Positieve IgG in beide stalen

Positieve IgM een maand na vaccinatie met negatieve IgM in de tweede afname (code 005)

De verdeling van de uitgevoerde testen per laboratorium wordt in tabel 3.1. weergegeven.

Tabel 3.1.1. Verdeling van de uitgevoerde testen per laboratorium voor Rubella (2010/1).

| Uitgevoerde testen | N labo's S/9769 | N labo's S/9770 |
|--------------------|-----------------|-----------------|
| Enkel totale AS | 1 | 1 |
| Enkel IgG | 12 | 12 |
| IgG + IgM | 136 | 147 |
| IgG + 2 IgM | 14 | 3 |
| Totaal | 163 | 163 |

In totaal werden er op S/9769 dus 1 bepaling van de totale AS, 162 bepalingen van IgG en 164 van IgM uitgevoerd. Op S/9770 waren dit respectievelijk 1 bepaling van totale AS, 162 IgG en 153 IgM

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- IgG (zelfde percentage gebruikers voor beide stalen): AxSym Rubella IgG (Abbott) (17.9%), Architect Rubella IgG (Abbott) (17.3%), Liaison Rubella IgG (DiaSorin) (16.7%), VIDAS Rub IgG II (bioMérieux) (14.8%)
- IgM: VIDAS Rub IgM (bioMérieux) (21.3% en 17.0%), Liaison Rubella IgM (DiaSorin) (16.5% en 17.6%), AxSym Rubella IgM (Abbott) (15.8% en 16.3%), Architect Rubella IgM (Abbott) (15.2% en 16.3%)

Voor de IgG, bekam één laboratorium een negatief resultaat voor staal S/9769 en een positief voor staal S/9770. Een tweede bekam een borderline resultaat voor staal S/9769 en een positief voor staal S/9770.

Alle 160 andere laboratoria bekwamen positieve resultaten met beide stalen.

Voor elk van de verschillende toestellen waren de medianen bekomen voor staal S/9770 groter dan deze bekomen voor S/9769.

162 laboratoria gaven een interpretatie voor de IgG: 111 (68.5%) laboratoria kozen voor “Positieve IgG een maand na vaccinatie met significante stijging twee maand na vaccinatie”; 42 (25.9%) opteerden voor “Positieve IgG in beide stalen. Geen significante titerstijging” en 6 (3.7%) verkozen “Borderline positieve IgG een maand na vaccinatie met significante stijging twee maand na vaccinatie”. Drie laboratoria verkozen een andere interpretatie.

In het globaal rapport werd de relatie tussen de gebruikte kits, de kwalitatieve resultaten voor beide stalen, de kwantitatieve resultaten en de interpretaties geïllustreerd.

Resultaten van de IgM:

Volgende tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport:

Tabel 3.1.2. Resultaten Rubella IgM (2010/1).

| Resultaat S/9769 | Resultaat S/9770 | N labo's |
|----------------------------------|-----------------------------------|------------|
| Positief | Positief | 2 |
| Positief | Borderline | 8 |
| Positief ¹ | Borderline /Negatief ² | 1 |
| Positief ³ | Negatief ⁴ | 80 |
| Positief/Borderline ² | Borderline /Negatief ² | 1 |
| Positief/Borderline ² | Negatief | 5 |
| Borderline ⁵ | Negatief | 44 |
| Negatief | Negatief | 9 |
| Totaal | | 150 |

¹ Eén laboratorium bekwam voor S/9769 het resultaat “positief” met de beide technieken die het gebruikte.

² Een aantal laboratoria bekwamen verschillende resultaten met de verschillende technieken die ze gebruikten.

³ Met inbegrip van 6 laboratoria die hetzelfde resultaat “positief” bekwamen met de 2 gebruikte technieken.

⁴ Met inbegrip van 1 laboratorium dat hetzelfde resultaat “negatief” bekwam met de 2 gebruikte technieken.

⁵ Met inbegrip van 1 laboratorium dat hetzelfde resultaat “borderline” bekwam met de 2 gebruikte technieken.

150 laboratoria gaven een interpretatie voor de IgM: 107 (71.3%) laboratoria kozen voor “Positieve IgM een maand na vaccinatie met negatieve IgM in de tweede afname”; 21 (14%) opteerden voor “Borderline IgM één maand na vaccinatie, negatieve IgM in de tweede afname”; 8 (5.3%) laboratoria verwezen in de interpretatie naar positieve resultaten voor IgM in beide stalen, 14 (9.3%) andere naar negatieve IgM in beide stalen.

Het begeleidende commentaar ging nader in op de betekenis van het begrip “significante titerstijging”. In de literatuur wordt een **significante stijging** gedefinieerd als een **toename van de titer van ten minste 4 maal tussen 2 stalen**. Deze definitie is toepasbaar op **semi-kwantitatieve methoden die gebruik maken van verdunningsreeksen** zoals complementfixatie, immunofluorescentie,... Voor de **immuno-enzymatische testen** bestaat er hierover geen consensus; en dit ongeacht of ze uitgedrukt worden in indexen, arbitraire eenheden, internationale eenheden, enz. Sommige auteurs stellen een **verdubbeling van het signaal** (optische densiteit, luminescentie-eenheden,...) voor als significant. Een andere benadering zou kunnen zijn om de **intra-test variatiecoëfficiënt** van de methode te gebruiken en een **verschil** van minstens **3 standaarddeviaties tussen 2 stalen als significant te beschouwen**.

Ongeacht het criterium dat men gebruikt, is het van essentieel belang dat om een verschil tussen 2 stalen te beoordelen, deze **in dezelfde run** moeten worden getest.

Het commentaar benadrukte ook dat, wanneer men een **positief resultaat voor de IgM** bekommt, men een **tweede afname** moet vragen na 2-3 weken, evenals de **klinische inlichtingen en de context** waarin de test aangevraagd werd, navragen. De meerderheid van de personen (85-95 % naargelang de studies) ontwikkelen inderdaad **IgM antistoffen na vaccinatie**; in sommige gevallen kunnen deze meer dan 6 maanden persisteren. Het is dus belangrijk om allereerst deze mogelijkheid uit te sluiten. Anderzijds is een **Rubella-infectie bij een volwassene weinig waarschijnlijk in afwezigheid van symptomen of van contact met een Rubella-patiënt**. Indien men in deze context na 3 weken dus stabiele IgG en IgM aantreft, kan men redelijkerwijze een recente infectie uitsluiten.

Ter gelegenheid van deze enquête stelden we eveneens de vraag naar de cut-offs die de laboratoria gebruikten, zowel voor bepaling van de immuniteit als voor bepaling van de positiviteit van de IgM. Het was opvallend dat, hoewel de meeste cut-offs vergelijkbaar waren, we niet alleen verschillen tussen de verschillende kits, maar zelfs binnen een zelfde kit vast stelden.

Zoals reeds in het rapport van 2008 vermeld werd, mag men **een andere cut-off gebruiken dan deze vooropgesteld door de firma**, doch deze moet **dan gevalideerd** worden.

3.2. Syfilis

Er waren 2 gelyofiliseerde plasmamonsters, S/8683 en S/8684 waarop antistoffen tegen T. pallidum bepaald dienden te worden.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

Stalen S/8683 en S/8684:

“Een arts werkzaam in een soa-referentiecentrum ziet op de consultatie na elkaar twee mannen die beide losse seksuele contacten vermelden. De eerste patiënt (met staal S/8683) komt voor een check-up en heeft geen klachten. De tweede patiënt (met staal S/8684) consulteert voor een veralgemeende huiduitslag en vermeldt dat hij drie weken eerder een ulcus op de genitaliën had dat spontaan is genezen.”

De verwachte interpretaties waren:

S/8683: Interpretatie: “Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een niet-actieve infectie.”

S/8684: Interpretatie: “Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie.”

165 laboratoria namen deel aan deze enquête.

Op staal S/8683 voerden de 165 laboratoria 354 testen uit (1 labo antwoordde IgG en IgM afzonderlijk voor eenzelfde kit), met name 202 treponemale testen en 152 niet-treponemale testen.

11 laboratoria voerden 1 test uit, 128 laboratoria voerden 2 testen uit, 18 laboratoria 3 testen, 7 laboratoria 4 testen en 1 laboratorium 5 testen.

Op staal S/8684 voerden ze 355 testen uit (1 labo antwoordde IgG en IgM afzonderlijk voor eenzelfde kit), met name 203 treponemale testen en 152 niet-treponemale testen.

11 laboratoria voerden 1 test uit, 128 laboratoria voerden 2 testen uit, 18 laboratoria 3 testen, 6 laboratoria 4 testen en 2 laboratoria 5 testen.

72.7% van de laboratoria die 1 test uitvoerden, gebruikten een treponemale test en 27.3% een niet-treponemale. 96.1% van de laboratoria die meer dan 1 test uitvoerden, gebruikten de combinatie van niet-treponemale en treponemale testen en 3.9% enkel treponemale testen.

De meeste gebruikte kits waren Serodia TPPA (Fujirebio) (49.1% beide stalen), Murex Syfacard-R (Abbott) (21.8% beide stalen), RPR Carbon (Spinreact) (18.2% beide stalen), Liaison Treponema Screen (DiaSorin) (14.5% en 15.1%), RPR nosticon (bioMérieux) (14.5% beide stalen), en Architect Syphilis TP (Abbott) (13.9% beide stalen). (% uitgedrukt in functie van aantal deelnemende laboratoria).

Voor staal S/8683 bekwamen voor de niet-treponemale testen 51% van de laboratoria een negatief resultaat, 33.1% een positief en 15.2% een borderline; één laboratorium bekwam verschillende resultaten (positief en negatief) met de 2 gebruikte kits.

Voor de treponemale testen bekwamen 99.4% een positief resultaat en één laboratorium een negatief voor de “totale” antistoffen. Voor de IgG bekwamen 5 laboratoria een positief resultaat en één een negatief; alle 6 de labo's die de IgM bepaalden bekwamen een negatief resultaat.

109 (66.1%) laboratoria gaven de interpretatie “Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een niet-actieve infectie”. 3.0% van de laboratoria antwoordden deze zelfde interpretatie maar voegden er een opmerking aan toe. 18.8% verkozen “Aanwezigheid

van antilichamen suggestief voor een actieve infectie". 10.9% van de laboratoria stelden een eigen suggestie voor (die rekening hield met de aanwezigheid van antistoffen). 1.2% gaven de interpretatie "Geen antilichamen detecteerbaar".

Voor staal S/8684 bekwamen voor de niet-treponemale testen 98% van de laboratoria een positief resultaat, 1.3% een negatief en 0.7% een borderline.

Voor de treponemale testen bekwamen voor de "totale" antistoffen, 95.0% van de laboratoria een positief resultaat, 1.9% een borderline, 1.9% een negatief en 1.2% verschillende resultaten (positief en negatief) met de 2 gebruikte kits. Voor de IgG bekwamen 4 laboratoria een positief resultaat, één een borderline en één een negatief; alle 6 de labo's die de IgM bepaalden bekwamen een positief resultaat.

De meeste laboratoria (N = 155; 93.9%) kozen voor de interpretatie "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie". 1.2% verkozen "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een niet-actieve infectie". 3.0% van de laboratoria verklaarden geen onderscheid tussen actieve of niet-actieve infectie te kunnen maken (sommigen raadden bijkomende en/of follow-up testen aan om dit onderscheid te kunnen maken). 1.8% stelden een eigen suggestie voor (die rekening hield met de aanwezigheid van antistoffen).

Het begeleidende commentaar vermeldde dat hoeveelheid opmerkingen die door de laboratoria werden toegevoegd aan het resultaat van staal S/8683 **de moeilijkheid illustreert om een diagnose van syfilis louter op basis van laboratoriumresultaten te stellen bij patiënten met risicogedrag**. Voor een **volledig correcte interpretatie van een serologisch resultaat zijn klinische gegevens, een goede anamnese en inzage in vorige serologische resultaten noodzakelijk en kan het nodig zijn een opvolgstaal te onderzoeken**.

Voor staal S/8684 werd vermeld dat een direct opvolgstaal in deze situatie niet nodig is voor de diagnostiek. **Patiënten die risicogedrag vertonen worden om de drie maanden getest**. Deze opvolging laat toe het effect van de therapie na te gaan en een eventuele nieuwe infectie op te sporen.

3.3. HAV

Er waren 2 plasmamonsters, S/6529 (gelyofiliseerd) en S/10041 (klaar voor gebruik) waarop de serologie voor hepatitis A diende uitgevoerd te worden.

Het staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

“Patiënten met geelzucht.”

De verwachte resultaten en interpretaties waren:

Staal S/6529

IgG negatief, IgM negatief

Geen immuniteit

Staal S/10041

IgG positief, IgM positief

Serologisch profiel suggestief voor een recente/aanwezige infectie met het hepatitis A virus

166 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Zij voerden 313 testen uit op staal /6529 en 317 op staal S/10041.

Op staal S/6529 voerden 20 laboratoria 1 test uit, 145 laboratoria 2 testen en 1 laboratorium 3 testen.

Op staal S/10041 voerden 18 laboratoria 1 test uit, 145 laboratoria 2 testen en 3 laboratoria 3 testen.

Onderstaande tabel geeft de uitgevoerde parameters per laboratorium weer

Tabel 3.3.1. Verdeling van de uitgevoerde testen per laboratorium voor HAV (2010/2).

| Aantal testen | Type test | S/6529 | S/10041 |
|---------------|-------------------|--------|---------|
| 1 test | Totale As | 4 | 2 |
| | IgM | 16 | 16 |
| 2 testen | Totale As + IgM | 110 | 111 |
| | IgG + IgM | 35 | 34 |
| 3 testen | Totale As + 2 IgM | 1 | 2 |
| | IgG + 2 IgM | - | 1 |
| | | | |
| Totaal | | 166 | 166 |

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- IgG: Architect HAV IgG (Abbott) (100% beide stalen) (er is slechts 1 kit voor anti-HAV IgG op de Belgische markt)
- Totale As.: AxSym HAVAB 2.0 (Abbott) (19.1% beide stalen), VIDAS anti-HAV Total (bioMérieux) (19.1% beide stalen), Advia Centaur HAV Total (Siemens) (13.9% beide stalen), Modular anti-HAV (Roche) (11.3% beide stalen) en Unicel DxI HAV AB (Beckman) (10.4% beide stalen)
- IgM: Architect HAV IgM (Abbott) (22.7% en 22.2%), AxSym HAVAB M 2.0 (Abbott) (17.2% en 17.4%), VIDAS HAV IgM (bioMérieux) (14.1% en 14.9%) en Advia Centaur HAV IgM (Siemens) (9.8% en 9.6%)

Voor staal S/6529 vonden alle laboratoria die de totale antistoffen bepaalden deze negatief.

De IgG werden door 34 (97.1%) laboratoria negatief bevonden. Eén laboratorium bekwam een borderline resultaat.

Alle laboratoria die de IgM bepaalden, vonden deze negatief.

91% van de laboratoria gaven de correcte interpretatie "Geen immuniteit". 3.6% gaven de interpretatie "Geen argumenten voor recente/aanwezige infectie met het hepatitis A virus" en 3.6% "Interpretatie immunestatus niet mogelijk op basis van enkel IgM; complementaire testen (anti-HAV IgG) noodzakelijk". Deze laatste 2 interpretaties werden gegeven door laboratoria die enkel IgM bepaalden. Eén laboratorium antwoordde "Immuniteit"; en 2 laboratoria gaven geen interpretatie.

Voor staal S/10041 vonden alle laboratoria die de totale antistoffen of de IgG bepaalden deze positief.

Voor de IgM bepaalden, bekwamen 81.7% van de laboratoria een positief resultaat en 17.7% een borderline. Eén labo gebruikte 2 verschillende technieken en bekwam een verschillend resultaat (positief en borderline) voor beide. Alle borderline resultaten werden bekomen met de kit Architect HAVAb IgM (van de 37 gebruikers van deze kit bekwamen 30 een borderline en 7 een positief resultaat). Wij hebben het staal aan de firma Abbott bezorgd om hen toe te laten het te onderzoeken. U vindt hieronder hun bevindingen:

We appreciate you bringing this to our attention. We have reviewed the documented complaint information and note that you have observed a potentially depressed proficiency sample result with ARCHITECT HAVAb-IgM, list number 6C30-25. The lot number was not provided due to the blind study character. The proficiency sample was received and tested.

- A review of the shipping history was performed and we have reviewed the complaint and manufacturing records for ARCHITECT HAVAb-IgM reagent kits, list number 6C30-25, potentially being used at your laboratory (i.e. lot numbers 82015HN00, 83890HN00, 83895HN00, 86820HN00 and 88958HN00). This review did not identify any problems relating to your observation.
- To assess current sensitivity performance, one of the above mentioned reagent lot numbers in question was tested with a commercially available seroconversion panel consisting of 5 individual panel members. The results were comparable with historic reference data generated on this seroconversion panel. As an outcome of this study, we conclude that current sensitivity performance of ARCHITECT HAVAb-IgM meets its safety, effectiveness, and label claims.
- The provided proficiency sample (ID: 10041) was tested with ARCHITECT HAVAb-IgM reagent kit, list number 6C30-20, lot number 83894HN00 and resulted gray-zone reactive with 0.97 S/CO. Subsequent reference testing with AxSYM HAVAB-M 2.0 resulted reactive with an Index Value of 2.57. Both results reproduce the observations made in your laboratory.

Based on our investigation, we have determined that ARCHITECT HAVAb-IgM, list number 6C30-20, lot number 83894HN00, is performing acceptably. The components of this reagent lot are identical with list number 6C30-25, lot number 83895HN00, potentially in use at your laboratory.

However, the gray-zone result with ARCHITECT HAVAb-IgM that does not confirm with AxSYM HAVAB-M 2.0 could be reproduced for the proficiency sample in question. It remains unclear why you observed a potential false depressed result with the Proficiency sample. Please note that the ARCHITECT HAVAb-IgM assay was designed and validated for use with human serum or plasma from individual patient and donor specimens. In addition, the analytical sensitivity of different assays is not comparable, discrepant results can be explained by the different assay formats, different antigens and antigen concentrations used by the different assays.

We apologize for any inconvenience this may have caused you. Thank you for providing the information to assist with our investigation and for your continued support of Abbott Diagnostics. Note: Upon receipt of further information or product return this complaint may be reopened and additional evaluation conducted at that time.

90.3% van de laboratoria gaven de correcte interpretatie "Serologisch profiel suggestief voor een recente/aanwezige infectie met het hepatitis A virus". 4.2% (voornamelijk labo's met een borderline resultaat voor de IgM) gaven de interpretatie "Immuniteit"; 3.0%

raadden aan om het borderline resultaat te controleren (waabij sommigen de mogelijkheid van een interferentie opperden); 1.8% antwoordden dat complementaire testen (anti-HAV IgG) noodzakelijk zijn. Eén laboratorium gaf geen interpretatie.

Het begeleidende commentaar ging dieper in op de al dan niet noodzaak voor het afnemen van opvolgstalen. Voor staal S/6529 werd vermeld dat gezien IgM een hoogtepunt bereiken tijdens de symptomatische periode van hepatitis A infectie en we hebben hier te maken met een symptomatische patiënt (geelzucht), de opvolgserologie door de nieuwe afname niet is geïndiceerd. Voor staal S/10041 werd vermeld dat gezien serologisch profiel en klinische context sterk suggestief zijn voor de recente/aanwezige infectie met het hepatitis A virus en de negativering van IgM enkele maanden in beslag kan nemen, bevestiging/opvolgserologie niet geïndiceerd is.

3.4. Toxoplasma

Er waren 2 gelyofiliseerde plasmamonsters, S/5622 en S/6629 waarop antistoffen tegen Toxoplasma bepaald dienden te worden.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

S/5622: "Afname tijdens het eerste trimester van een zwangerschap"

S/6629: "Afname tijdens het eerste trimester van een zwangerschap"

De verwachte resultaten waren:

S/5622: IgG negatief

IgM negatief

Interpretatie: Afwezigheid van specifieke antistoffen (code 01)

S/6629: IgG positief

IgM negatief

Interpretatie: Aanwezigheid van antistoffen suggestief voor een oud contact (beschermende antilichamen) (code 02)

164 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 336 testen uit op staal S/5622 en 362 testen op staal S/6629.

Op staal S/5622 voerden 158 laboratoria 2 testen uit, 4 laboratoria 3 testen en 2 laboratoria 4 testen.

Op staal S/6629 voerden 135 laboratoria 2 testen uit, 24 laboratoria 3 testen en 5 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 2010/2)

| Aantal testen | Type test | S/5622 | S/6629 |
|---------------|-----------------------------|--------|--------|
| 2 testen | IgG + IgM | 158 | 135 |
| 3 testen | IgA + IgG + IgM | 2 | 1 |
| | IgG + IgM + IgM | 1 | 1 |
| | IgG + IgM + aviditeit | 1 | 22 |
| 4 testen | IgG + IgG + IgM + IgM | 2 | 2 |
| | IgA + IgG + IgM + aviditeit | - | 1 |
| | IgG + IgM + IgM + aviditeit | - | 2 |
| Totaal | | 164 | 164 |

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- IgG (zelfde percentages voor beide stalen): AxSym Toxo IgG (Abbott) (18.7%), Architect Toxo IgG (Abbott) (17.5%), Liaison Toxo IgG (DiaSorin) (15.7%), VIDAS Toxo IgG II (bioMérieux) (12.0%), Unicel Dxl Toxo IgG (Beckman) (9.6%) en Advia Centaur Toxo IgG (Siemens) (7.8%)
- IgM: AxSym Toxo IgM (Abbott) (18.6% en 18.3%), Architect Toxo IgM (Abbott) (16.8% en 16.6%), Liaison Toxo IgM (DiaSorin) (15.6% en 15.4%), VIDAS Toxo IgM (bioMérieux) (12.6% en 13.0%), Unicel Dxl Toxo IgM (Beckman) (9.6% en 9.5%) en Advia Centaur Toxo IgM (Siemens) (7.2% en 7.7%)
- IgG aviditeit (staal M/6629): VIDAS Toxo IgG avidity (bioMérieux) (72%)

Voor staal S/5622 bekwamen 99.4% van de laboratoria een negatief resultaat voor de IgG. Eén laboratorium bekwam een positief resultaat (staalverwisseling).

Beide laboratoria die de IgA bepaalden, vonden deze negatief.

93.9% van de laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de IgM; 2.4% een positief resultaat en 2.4% een borderline. 1.2% bekwamen verschillende resultaten met de 2 gebruikte kits. Alle niet-negatieve resultaten werden bekomen met de ADVIA Centaur Toxo IgM kit. De firma werd hierover gecontacteerd; u vindt de resultaten van hun onderzoek onder de bespreking van staal S/6629.

152 (92.7%) gaven voor S/5622 de correcte interpretatie "Afwezigheid van specifieke antistoffen". Acht (4.9%) 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. Twee laboratoria gaven andere interpretaties en één laboratorium verkoos geen interpretatie te geven.

Voor staal S/6629 bekwamen 98.7% van de laboratoria een positief resultaat voor de IgG. Eén laboratorium bekwam een borderline resultaat en één labo een positief (staalverwisseling).

Beide laboratoria die de IgA bepaalden, vonden deze negatief.

93.3% van de laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de IgM; 4.9% een positief resultaat. 1.8% bekwamen verschillende resultaten met de 2 gebruikte kits. Bijna alle niet-negatieve resultaten werden bekomen met de Immulite Toxoplasma IgM kit. De firma werd hierover gecontacteerd; hieronder vindt u de resultaten van hun onderzoek.

"Tests were performed on the 2 survey samples with different reagent lots with our different ToxoM assays in order to confirm (or not) lab results.

Upon the first file, concerning sample "ToxM Lot 68 2010-2217-EUR-LTS" the single replicate for this sample was a high negative. This type of result is consistent with 6 positives, 4 equivocal and 2 negatives. The sample is near cut off.

The second file "ANA-GEM 2010-2217-EUR-LTS, xls", the discordant positive survey sample on the Centaur is ANA positive. There is indication of a non specific interaction with ANA samples tested for submissions in the cross reactivity panel associated with the ANA disease state. There were three discordant samples reported between June 2009 and June 2010. Three samples reported out of the volume of Toxoplasma reagents shipped in 12 months time supports the assay meeting specificity claims in the IFU.

The GEM is closed as not confirmed due to assay meeting specificity claims."

Voor de aviditeit bekwamen 24 (96%) laboratoria het resultaat "hoog" en één labo het resultaat "borderline" voor staal S/6629.

151 (92.1%) gaven de correcte interpretatie "Aanwezigheid van antistoffen suggestief voor een oud contact (beschermende antilichamen)" voor staal S/6629. Twaalf (7.3%) laboratoria verkozen "Serologisch patroon kan een recente infectie niet uitsluiten of bevestigen; te confirmeren met een follow-up staal" of een variant hiervan. Eén laboratorium antwoordde "Afwezigheid van specifieke antistoffen".

Het commentaar op de enquête benadrukte dat voor wat betreft de IgM deze twee stalen op een goede manier aantoonde dat **iedere kit met bepaalde stalen problemen kan vertonen**.

Vals positieve resultaten kunnen en zullen voorkomen bij alle kits, en er mag **nooit** aan de hand van **resultaten gegenereerd op één staal** worden geadviseerd om **van kit te veranderen**.

Voor de productie van een serologie kit gebruikt iedere fabrikant een antigeen dat op een bepaalde manier werd geproduceerd. Dit antigeen heeft dus ook een bepaalde

sensitiviteit en specificiteit om antistoffen op te sporen en heeft dan ook een zekere mate van kruisreactiviteit. Het is dus perfect mogelijk dat **kit X vals positief reageert met staal A en niet met staal B terwijl kit Y dan weer vals positief zal reageren met staal B en niet met staal A**. Om een kit als "minder goed presterend" aan te duiden moeten dergelijke vals positieve resultaten vaker voorkomen dan met andere kits en moet de evaluatie gebeuren op niet geselecteerde stalen (de stalen die gekozen worden om verstuurd te worden met een kwaliteitscontrole worden eerst nagekeken door de experts en kunnen dus als "geselecteerde stalen worden beschouwd").

Het commentaar benadrukte eveneens dat een positieve IgM gecombineerd met een negatieve IgG steeds gecontroleerd moet worden op de verschijning van specifieke IgG antistoffen. Indien deze niet verschijnen, mag nooit de diagnose van acute infectie worden weerhouden. Een periode van 2 à 3 weken is normaal voldoende om de IgG's te zien verschijnen, maar soms is een langere periode noodzakelijk zeker indien er al een therapie werd gestart

3.5. HBV

Er werden twee stalen (S/5631 en S/6624) opgestuurd.
Beide stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:
“ Screening tijdens de zwangerschap”

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. 3.7. Interpretatie van HBV en HCV).

De verwachte resultaten voor HBV waren:

S/5631:

HBsAg negatief
HBsAs negatief
HBcAs negatief
HBeAg negatief
HBeAs negatief

S/6624:

HBsAg positief
HBsAs negatief
HBcAs positief
HBeAg negatief
HBeAs positief

Voor staal S/5631 voerden de 171 laboratoria 672 testen uit die als volgt verdeeld waren:

- HBs Ag:172 testen
- HBs Ag confirmatie:1 test
- anti-HBs As:169 testen
- anti-HBc totale As:164 testen
- IgM anti-HBc:3 testen
- HBe Ag:83 testen
- anti-HBe As:80 testen

1 laboratorium voerde 1 test uit, 5 laboratoria 2 testen, 81 laboratoria 3 testen, 5 laboratoria 4 testen, 78 laboratoria 5 testen en 1 laboratorium 8 testen.

Voor staal S/6624 voerden de 171 laboratoria 738 testen uit die als volgt verdeeld waren:

- HBs Ag:172 testen
- HBs Ag confirmatie:7 testen
- anti-HBs As:170 testen
- anti-HBc totale As:164 testen
- IgM anti-HBc:6 testen
- HBe Ag:112 testen
- anti-HBe As:107 testen

1 laboratorium voerde 1 test uit, 4 laboratoria 2 testen, 52 laboratoria 3 testen, 7 laboratoria 4 testen, 100 laboratoria 5 testen, 5 laboratoria 6 testen, 1 laboratorium 7 testen en 1 laboratorium 8 testen.

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- HBsAg: Architect HBsAg (Abbott) (28.5%, beide stalen), AxSym HBsAg (Abbott) (13.4%, beide stalen), ADVIA Centaur HBsAg (Siemens) (9.3%, beide stalen), Modular HBsAg II (Roche) (8.1%, beide stalen), Unicl Dxl HBsAg V3 (Beckman) (7.0%, beide stalen) en VIDAS HBsAg Ultra (bioMérieux) (7.0%, beide stalen)
- Anti HBs As: Architect anti-HBs (Abbott) (respectievelijk 27.8% en 27.6%), AxSym AUSAB (Abbott) (respectievelijk 13.0% en 12.9%), Modular anti-HBs (Roche) (respectievelijk 7.7% en 8.2%), ADVIA Centaur anti-HBs (Siemens) (respectievelijk 7.7% en 7.6%), VIDAS anti-HBs Total Quick (bioMérieux) (respectievelijk 7.7% en 7.6%) en Unicl Dxl HBsAb (Beckman) (6.5% beide stalen)
- Anti HBc totale As: Architect anti-HBc (Abbott) (28.0%, beide stalen), AxSym CORE (Abbott) (12.8%, beide stalen), VIDAS anti-HBc Total II (bioMérieux) (9.8%, beide stalen), ADVIA Centaur anti-HBc Total (Siemens) (7.9%, beide stalen), Modular anti-HBc (Roche) (7.9%, beide stalen) en Unicl Dxl HBcAb (Beckman) (6.1%, beide stalen)
- HBeAg: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (respectievelijk 34.9% en 42.9%), Architect HBeAg (Abbott) (respectievelijk 22.9% en 22.3%) en AxSym HBe 2.0 (Abbott) (respectievelijk 12.0% en 9.8%)
- Anti HBe As: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (respectievelijk 31.3% en 40.2%), Architect anti-HBe (Abbott) (respectievelijk 26.3% en 24.3%) en AxSym anti-HBe 2.0 (Abbott) (respectievelijk 11.3% en 9.3%)

De resultaten kunnen als volgt samengevat worden:

S/5631: 96.5% van de deelnemers vonden het HBsAg negatief en 98.8% de anti-HBsAs negatief; alle deelnemers vonden de totale anti-HBc As, de HBc IgM, het HBeAg en de anti-HBe As negatief.

S/6624: alle deelnemers vonden HBsAg positief (inclusief de HBsAg confirmatie in geval ze deze uitvoerden) en de anti-HBs As negatief; 99.4% vonden de totale anti-HBc As positief, alle deelnemers de HBc IgM negatief; 98.2% het HBeAg negatief en 98.1% de anti-HBe As positief.

3.6. HCV

Op dezelfde stalen waarop de HBV serologie uitgevoerd werd (cfr. 3.5.), dienden eveneens de anti-HCV antistoffen bepaald te worden.

De verwachte resultaten waren:

| | |
|---------|--------------------------|
| S/5631: | HCV-antistoffen positief |
| S/6624: | HCV-antistoffen negatief |

165 Belgische en Luxemburgse klinische laboratoria hebben de anti-HCV antistoffen bepaald. Voor staal S/5631 ontvingen we echter slechts 164 evalueerbare resultaten; één laboratorium antwoordde immers dat het over onvoldoende staal beschikte om de HCV-As te bepalen. Een aantal laboratoria voerden 2 testen uit: 10 op staal S/5631 en 2 laboratoria op S/6624.

Op staal S/5631 werden 168 ELISA-testen, 2 LIA-testen en 4 blottesten uitgevoerd; op staal S/6624, 167 ELISA-testen.

De meest gebruikte kits waren: Architect HCV (Abbott) (29.3% en 30.5%), AxSym HCV 3.0 (Abbott) (13.2% en 13.8%), ADVIA Centaur HCV (Siemens) (11.5% en 12.0%) en Access HCV Ab Plus op Unicl Dxl 800 (Biorad) (9.2% en 9.6%)

Voor staal S/5631 bekwamen 164 laboratoria een positief resultaat voor alle gebruikte methoden. Eén laboratorium bekwam een positief resultaat met één methode en een borderline met een andere methode. Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor staal S/6624.

3.7. Interpretatie van HBV en HCV

Zoals reeds vermeld in hoofdstuk 3.5. 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/5631: “Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; de mogelijkheid van een hepatitis C virus infectie dient bevestigd te worden via bijkomende onderzoeken” (code 08)

S/6624: “Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie” (code 01)

Uiteindelijk gaven 161 laboratoria een gecombineerde interpretatie voor staal S/5631 en 162 laboratoria voor staal S/6624.

Voor staal S/5631 opteerden 148 (91.9%) laboratoria voor de interpretatie “Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; de mogelijkheid van een hepatitis C virus infectie dient bevestigd te worden via bijkomende onderzoeken”. Twee laboratoria kozen voor “Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; positief voor HCV” (één van deze beide laboratoria voerde een confirmatietest uit; het andere bekwam een hoge ratio voor de HCV-As bepaling). Eén laboratorium antwoordde “Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie; de mogelijkheid van een hepatitis C virus infectie dient bevestigd te worden”. Negen laboratoria kozen voor één van de andere voorgestelde interpretaties en één laboratorium stelde een eigen interpretatie voor.

Voor staal S/6624 kozen 159 (98.1%) laboratoria voor de interpretatie “Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie”. Twee laboratoria verkozen een andere van de voorgestelde interpretaties en één laboratorium stelde een eigen interpretatie voor.

Het commentaar op de enquête benadrukte dat de overgrote meerderheid van de laboratoria correcte resultaten bekwamen voor de technische analyses en correcte interpretaties gaven; en dit voor beide stalen. Hoewel de afwijkende interpretaties die door enkele laboratoria verstrekt werden in overeenstemming waren met de door hun bekomen technische resultaten, waren deze laatste incorrect.

Voor staal S/5631 dient vermeld te worden dat **HBeAs en HBeAg niet hoeven bepaald** te worden bij **HBsAg-negativiteit**. De overgrote meerderheid van laboratoria die de correcte interpretatie hebben gebruikt, kozen voor opmerkingen (95%, 140 van 148 laboratoria) die allemaal de **bijkomende bevestiging van positieve HCV serologie** behandelen. Deze opmerkingen **dienen geïnterpreteerd te worden binnen een gevalideerd protocol in het bepaalde laboratorium**: zowel HCV PCR als andere EIA of RIBA of LIA of immunoblotting en zelfs geen bevestiging kunnen als correcte complementaire testen gezien worden. Het dient vermeld te worden dat internationaal erkende protocols wel bevestiging van positieve HCV serologie door serologische of moleculair biologische technieken aanbevelen (NHS, CDC). **Kwantitatieve bepaling van HCV RNA en HCV genotypering zijn niet noodzakelijk als bevestiging van positieve HCV serologie**; HCV DNA vormt een incorrect antwoord gezien HCV een RNA-bevattend virus is.

Op het **HBsAg-positieve staal S/6624**, is het wel belangrijk om **hepatitis B e-markers te bepalen** gezien in de klinische situatie van de zwangerschapsscreening de status van e-markers gaat bepalend zijn of de pasgeborene naast vaccin ook immunoglobulines nodig heeft. De overgrote meerderheid van laboratoria (87%, 141 van 162) kozen voor

opmerkingen die de **bijkomende bevestiging van positieve HBsAg of klinische, serologische en eventueel moleculairdiagnostische opvolging** voorstellen. Deze opmerkingen **dienen geïnterpreteerd te worden binnen een globaal pakket van uitgevoerde serologische testen en gevalideerde testalgoritmes in het bepaalde laboratorium**: zowel nieuwe staalname voor HBsAg bepaling als HBsAg confirmatie en zelfs geen bevestiging van HBsAg positiviteit kunnen als correcte opmerkingen in dit licht gezien worden. Het dient vermeld te worden dat met het vooruitzicht op de **correcte postnatale opvolging van pasgeborene, HBsAg bevestiging en hepatitis e-markers de voorkeur genieten** en HBV virale lading en opsporing van precoremutanten bieden in deze klinische situatie geen extra waarde.

3.8.HIV

Er werden 2 “klaar-voor-gebruik” stalen (S/5626 en S/8693) verstuurd voor de bepaling van HIV-antistoffen.

Er werd eveneens gevraagd welke de houding van de laboratoria zou zijn, indien de stalen afkomstig zouden zijn van een kind jonger dan 6 maanden.

De verwachte resultaten waren:

Staal S/5626 was negatief op HIV-antistoffen.

Staal S/8693 was positief op HIV-antistoffen.

Aan deze enquête namen 170 Belgische en Luxemburgse laboratoria deel.

Op staal S/5626 voerden de laboratoria 183 screeningstesten uit: 157 laboratoria voerden 1 test uit en 13 laboratoria 2 testen. Daarnaast vermelden, 10 deelnemers het resultaat van de Ag p24 test die zij bekwamen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit (bioMérieux) en 2 laboratoria het resultaat van het p24 Ag bekomen met de VIDAS HIV p24 II kit (bioMérieux).

Op staal S/8693 voerden de laboratoria 193 screeningstesten uit: 147 laboratoria voerden 1 test uit en 23 laboratoria 2 testen. Daarnaast vermelden 9 deelnemers het resultaat van de Ag p24 test bekomen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit, bepaalden 2 laboratoria Ag p24 met de VIDAS HIV p24 II kit en 1 met de Innotest HIV Antigen mAb (Innogenetics); drie laboratoria voerden een confirmatietest uit: één met de Inno-LIA HIV Confirmation (Innogenetics), één met de GENELABS HIV 2.2 BLOT (Genelab Diagnostics) en één met de HIV-Blot 2.2 (MP Diagnostics).

De meest gebruikte reagentia waren Architect HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (25.1% en 23.8% voor de 2 stalen), AxSYM HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (13.7% en 13.5% voor de 2 stalen), HIV Combi 2nd Generation (Roche) (12.6% en 11.9% voor de 2 stalen) en VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) (10.9% en 12.9% voor de 2 stalen).

Resultaat van de screeningstesten voor S/5626: het staal werd negatief bevonden door 169 (99.4%) laboratoria en positief door één laboratorium.

Alle resultaten van de Ag p24 testen waren negatief.

Resultaat van de screeningstesten voor S/8693: 169 (99.4%) laboratoria bekwamen een positief resultaat met de screeningstesten. Eén laboratorium bekwam een borderline resultaat.

De Ag p24 bepalingen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit gaven het antwoord “ND” “Not Determined” weer.

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, Inno-LIA HIV Confirmation en de HIV-Blot 2.2 waren allen positief.

Er werd eveneens gevraagd welke de houding van de laboratoria zou zijn, indien de stalen afkomstig zouden zijn van een kind jonger dan 6 maanden. Hoewel er vele variaties waren in de antwoorden van de laboratoria, gaf het merendeel een aanvaardbaar antwoord.

De verwachte antwoorden op de gestelde vragen waren:

- 1) Is het kind besmet bij positieve test? Het antwoord is « nee » of « het is niet mogelijk het uit te maken », want de gebruikte serologische test is niet geschikt en nutteloos. De test kan evengoed positief zijn wegens maternale antistoffen.
- 2) Zijn deze stalen (serum) geschikt voor de diagnose? Deze stalen zijn niet geschikt. Er moet bloed afgenomen worden op EDTA om opsporing van het virale DNA uit te voeren.
- 3) Welk type staal zou u naar een referentielaboratorium versturen? Men stuurt een bloedstaal op EDTA, zoals hierboven uitgelegd. Het AIDS referentielaboratorium zal het proviraal genoom en eventueel het virale RNA opsporen.

Het commentaar gaf hiervan een nadere verduidelijking: bij kleine kinderen van een HIV besmette moeder zijn er altijd maternale antistoffen, die tot na 15 maand kunnen aanhouden. De diagnose moet dus beroep doen op andere testen dan de serologische (zie de site van de AIDS referentielaboratoria: <http://www.wiv-isp.be/epidemiology/EPIEN/AIDS/ARLEN/nindex.html>) en hiervoor is het nuttig stalen naar een AIDS referentielaboratorium te sturen volgens het schema op de site. De belangrijkste test is het opsporen van proviraal DNA in witte bloedcellen. Hiervoor moet vol bloed op een anticoagulant afgenomen worden, liefst EDTA (citraat kan ook gebruikt worden maar veroorzaakt een zekere staaldilutie en heparine moet vermeden worden want sporen ervan kunnen de polymerase in de polymerase kettingreactie of PCR inhiberen). Een staal, kort na de geboorte laat dikwijls reeds de diagnose toe, maar mag in geen geval afgenomen worden van de navelstreng, wegens een te hoog risico van contaminatie door het bloed van de moeder. Vervolgens doet men afnames op 1 en 3 maand en eventueel ook op 2 en 6. Het is belangrijk een positief resultaat te bekomen op twee onafhankelijke stalen vóór men besluit tot besmetting van het kind. Een kind dat seronegatief geworden is kan met klassieke serologie gevolgd worden indien nodig.

3.9. Legionella Ag

Er werden 2 urinestalen (Ag/10093 en Ag/10118) rondgestuurd waarop de bepaling van het Legionella-antigen gevraagd werd.

Beide stalen waren positief.

In het totaal stuurden 71 laboratoria hun antwoordformulier terug.
Alle laboratoria voerden 1 test uit op elk van beide stalen.

De meest gebruikte reagentia waren Binax Now Legionella Urinary Ag test (Alere Health) (76.1%), SAS Legionella Test (SA Scientific) (9.9%), Legionella Urinary Antigen Lateral Flow (IVD Research Inc.) (8.5%)

Voor staal Ag/10093 bekwamen 70 laboratoria een positief resultaat en één labo een borderline.

Voor staal Ag/10118 bekwamen 63 laboratoria een positief resultaat, 6 een borderline, één labo bekwam een negatief resultaat en één labo gaf geen antwoord.

De borderline resultaten werden bekomen met 2 verschillende kits: het resultaat van Ag/10093 en 3 resultaten van Ag/10118 met Legionella Urinary Antigen Lateral Flow; de overige 3 van Ag/10118 met Binax Now Legionella Urinary Ag test; het negatieve resultaat werd ook met deze laatste kit bekomen.

Het commentaar op de enquête beschreef kliniek en diagnostiek van *Legionella* species. *Legionella* sp. is vooral bekend als verwekker van acute pneumonie (legionairsziekte of veteranenziekte) met hoge mortaliteit waarbij een snelle diagnose gevolgd door gerichte antibiotherapie een belangrijke invloed heeft op de outcome. *Legionella pneumophila* is in meer dan 90% van de gevallen de verantwoordelijke verwekker van een Legionella pneumonie, en dan voornamelijk serogroep 1 (70 à 80%). *Legionella* serogroep 2-15 en Legionella non-pneumophila kunnen echter ook verantwoordelijk zijn voor het veroorzaken van pneumonie of andere ziekteverschijnselen. Naast pneumonie kan *Legionella pneumophila* ook andere ziekteverschijnselen zoals Pontiac fever en zelfs endocarditis veroorzaken.

De diagnostiek van een Legionella infectie kan gebeuren door cultuur van respiratoire stalen. Het **nadeel van cultuur** is dat deze **meerdere dagen incubatie** vereist en dat **speciale voedingsbodems** (met cysteïne) noodzakelijk zijn. Ook **moleculaire diagnostiek** op bv. respiratoire stalen is mogelijk maar **zeker niet in elk laboratorium beschikbaar**. **Serologie is pas weken na de acute infectie mogelijk** en laat **dus geen vlugge diagnostiek** toe maar kan wel voor epidemiologische doeleinden gebruikt worden.

Een **eenvoudige test** die snel en zeer toegankelijk is, is de **urinaire antigenetest**. Er bestaan meerdere types testen: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assays (**ELISA**) en immunochromatografische testen (**ICT**) die **geschikt** zijn voor het opsporen van **Legionella pneumophila serogroep 1**. Deze testen hebben meestal een **zeer goede specificiteit (tot 99%)**, maar slechts een **bepaalde gevoeligheid** (afhankelijk van de geteste populatie en de gebruikte test). Dit betekent dat ze **wel** kunnen gebruikt worden om Legionella te **diagnosticeren** maar **niet** om een infectie met zekerheid **uit te sluiten**. Bovendien wordt (voornamelijk) *Legionella pneumophila* serogroep 1 gedetecteerd, alhoewel voor sommige testen geclaimd wordt dat ook andere serogroepen opgespoord worden. Het zal dan ook afhankelijk zijn van de kliniek van de patiënt en de

waarschijnlijkheid (vb. recente reis, geen andere pathogeen respiratoir teruggevonden,..) of bij een negatief resultaat andere stalen op Legionella zullen moeten getest worden.

Belangrijk is ook om bij het resultaat te rapporteren dat enkel serogroep 1 opgespoord werd. Isenberg vermeldt hieromtrent als volgt te rapporteren:

“Positief voor urinair antige*n van Legionella pneumophila* serogroep 1»

of

“Negatief voor urinair antige*n van Legionella pneumophila* serogroep 1.”

Met als bijkomend commentaar: Andere serogroepen en species van Legionella worden met deze test niet opgespoord. Cultuur van respiratoire secreties is aan te raden indien verdacht voor infectie met Legionella.

Voor beide positieve stalen verstuurd in de enquête bekomen de meeste laboratoria een correct resultaat. In **geval van twijfel, moet zeker een controlestaal gevraagd worden.**