

**EXPERTISE, DIENSTVERLENING EN KLANTENRELATIES
KWALITEIT VAN MEDISCHE LABORATORIA**

**COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE
COMITE VAN EXPERTEN**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE VOOR
ANALYSEN KLINISCHE BIOLOGIE**

DEFINITIEF JAARRAPPORT

MICRO/SERO/PARA

2012

WIV-2012/Micro/Sero/Para/92

Expertise, dienstverlening en klantenrelaties
Kwaliteit van medische laboratoria
J. Wytsmanstraat, 14
1050 Brussel | België

www.wiv-isp.be

COMITE VAN EXPERTEN

WIV (secretariaat) : TEL : 02/642.55.22 – FAX : 02/642.56.45
 Dr. VERNELEN K. : TEL : 02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45
 (Enquêtecoördinator) : e-mail : kris.vernelen@wiv-isp.be
 Dr. CHINA B. : TEL : 02/642.53.85 – FAX : 02/642.56.45
 (Vervanger enquêtecoördinator) : e-mail : bernard.china@wiv-isp.be

Experten:

Apr. BOEL An : TEL : 053/72.47.85 - FAX : 053/72.45.88
 : e-mail : an.boel@olvz-aalst.be

Dr. CLAEYS Geert : TEL : 09/332.36.45 – FAX : 09/332.49.85
 : e-mail : geert.claeys@ugent.be

Dr. DE BEENHOUWER Hans : TEL : 053/72.42.72 – FAX : 053/72.45.88
 : e-mail : hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be

Dr. DE GHELDRE Yves : TEL : 02/340.41.34 – FAX : 02/340.41.79
 : e-mail : yves.degheldre@chirec.be

Dr. DEDISTE Anne : TEL : 02/535.45.42
 : e-mail : anne_dediste@stpierre-bru.be

Dr. DELFORGE Marie-Luce : TEL : 02/555.34.53 – FAX : 02/555.64.59
 : e-mail : mdelforg@ulb.ac.be

Dr. LAGROU Katrien : TEL : 016/34.70.98 – FAX : 016/34.79.31
 : e-mail : katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be

Dr. MAGERMAN Koen : TEL : 011/30.97.40 – FAX : 011/30.97.50
 : e-mail : koen.magerman@jessazh.be

Dr. NAESSENS Anne : TEL : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15
 : e-mail : anne.naessens@uzbrussel.be

Dr. PADALCO Elizaveta : TEL : 09/332.21.08 – FAX : 09/332.49.85
 : e-mail : elizaveta.padalko@uzgent.be

Dr. REYNDERS Marijke : TEL : 050/45.39.27 – FAX : 050/45.26.19
 : e-mail : marijke.reynders@azsintjan.be

Dr. VAN ESBROECK Marjan : TEL : 03/247.64.37 – FAX : 03/247.64.40
 : e-mail : mvesbroeck@itg.be

Dr. VERROKEN Alexia : TEL : 02/764.67.32 – FAX : 02/764.69.33
 : e-mail : alexia.verroken@uclouvain.be

Dr. WOESTYN Sophie : TEL : 056/85.58.85 – FAX : 056/85.58.86
 : e-mail : sophie.woestyn@skynet.be

Expertenvergadering: 05/09/2013

Toestemming verspreiding rapport: door Kris Vernelen (Enquêtecoördinator) op 16/09/2013



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 2012 werden er 3 enquêtes georganiseerd in het kader van de EKE in de microbiologie. 167 laboratoria namen aan minstens één enquête deel. 4 laboratoria (2.4 %) nam deel aan 1 enquête, 3 (1.8 %) namen deel aan 2 enquêtes en 160 (95.8 %) aan 3 enquêtes. Drie laboratoria stopten hun activiteiten en één laboratorium schreef zich laattijdig in. De deelname van de laboratoria bedroeg voor de opeenvolgende enquêtes respectievelijk 166, 164 en 165.

Men onderscheidt 111 hospitaallaboratoria, 43 privé laboratoria en 4 laboratoria in poliklinieken. Tevens namen 9 Luxemburgse laboratoria deel aan de enquête.

1.1. Verlag van de identificatie van de culturen.

1.1.1. Verdeling van de resultaten per monster.

Er werden 12 gevriesdroogde stalen verstuurd.

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* (stoelgang; enquête 2012/1) en *Campylobacter jejuni* (stoelgang; enquête 2012/2) werden een identificatie tot op het genusniveau als afdoende beschouwd.

“*Streptococcus mitis*” uit de conjunctivitis van de 2^e enquête werd met didactische bedoelingen verstuurd: deze kiem was optochine gevoelig; uit de resultaten bleek overigens dat slechts 27% van de laboratoria deze kiem als *S. mitis*/*S. oralis* identificeerden; de grote meerderheid van de laboratoria heeft de kiem als een *S. pneumoniae* geïdentificeerd. Dit staal werd op didactische gronden verstuurd.

Er werden eveneens een uitstrijkje verstuurd: uit een hemocultuur voor Gramkleuring: gram-negatieve staven + gram-positieve kokken (M/11677)

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

Kiem	% aanvaardbare identificaties
<i>Staphylococcus aureus</i> (hemocultuur)	99.4
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (sputum)	98.8
<i>Escherichia coli</i> (urine)	100
<i>Salmonella typhimurium</i> (stoelgang)	98.2
<i>Aerococcus urinae</i> (urine)	93.8
<i>Enterococcus faecium</i> (hemocultuur)	96.9
<i>Campylobacter jejuni</i> (stoelgang)	95.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (rectale wisser)	99.3
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (bronchusaspiraats)	99.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (urine)	97.5
<i>Propionibacterium acnes</i> (revisie schouderprothese)	90.8

Voor uitstrijkje M/11677 gaven 55.3% laboratoria het correcte antwoord, 1.9% antwoorden de aanwezigheid van gram-negatieve staven + gram-positieve kokken samen met andere kiemen; 26.7% vonden enkel de gram-positieve kokken terug en 1.2% enkel de gram-negatieve staven; 6.2 % vonden gram-positieve kokken + andere kiemen dan gram-negatieve staven; 3.1% gram-negatieve staven + andere kiemen dan gram-positieve kokken. 5.6% enkel andere kiemen.

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

Elk laboratorium diende 11 identificaties te verwezenlijken. 130 (77.8%) laboratoria hebben alle identificaties correct of aanvaardbaar geantwoord. In het totaal hebben 37 (22.2 %) 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 = 167)
0	130 (77.8%)
1	31 (18.6%)
2	4 (2.4%)
3	1 (0.6%)
4	1 (0.6%)

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 = 167)
0	129 (77.2%)
1	30 (18.0%)
2	4 (2.4%)
3	1 (0.6%)
4	1 (0.6%)
5	1 (0.6%)
8	1 (0.6%)

1.2. Evaluatie van de gevoeligheidsbepalingen

De gevoeligheid van 7 kiemen, *Staphylococcus aureus* M/5467, *Streptococcus pneumoniae* M/11283, *Escherichia coli* M/11407, *Streptococcus mitis* M/11417, *Enterococcus faecium* M/11681, *Klebsiella pneumoniae* M/11719, M/11720 en M/11721 werden uitgetest elk tegenover een afzonderlijke reeks antibiotica.

1.2.1. *Staphylococcus aureus* M/5467

Deze kiem werd gekenmerkt door de aanwezigheid van een induceerbare MLS_B-resistentie, welke door 35 laboratoria expliciet vermeld werd; doch de meerderheid van de laboratoria hebben dit duidelijk vast gesteld zoals blijkt uit de resultaten voor clindamycine.

Tabel 1.2.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/5467 (*Staphylococcus aureus*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Penicilline	S	154	140 ¹	-	13	1 ²
Oxacilline	S	145	145	-	-	-
Cefoxitine	S	119	119	-	-	-
Clindamycine	R	162	15 ³	6 ⁴	141	-
Clarithromycine ⁵	R	2	-	-	2	-
Erythromycine	R	162	1	-	161	-
Vancomycine	S	155	146	1	2 ⁶	5 ⁷
Chinolone						
Ciprofloxacin	S	51	51	-	-	-
Levofloxacin	S	77	77	-	-	-
Moxifloxacin	S	37	37	-	-	-
Norfloxacin	S	4	4	-	-	-
Ofloxacin	S	10	10	-	-	-
Chinolone ⁸	S	3	3	-	-	-

¹ Eén laboratorium gaf volgende opmerking: "EUCAST zou in geval van twijfel voor Peni G sneller S antwoorden. Gezien de ernst van de kliniek zouden we gebruik van Peni G niet aanraden."

² Eén laboratorium antwoordde wel het kwantitatieve resultaat (MIC ≤ 0.06 mg/L, bekomen met de Phoenix) en het ruwe resultaat ("S") maar liet het finale resultaat open.

³ Drie laboratoria voorzagen dit antwoord wel van de opmerking dat er een induceerbare MLS_B-resistentie aanwezig is.

⁴ Eén laboratorium verzag dit antwoord wel van de opmerking dat er een induceerbare MLS_B-resistentie aanwezig is en dat deze therapie afgeraden is voor ernstige infecties.

⁵ Twee laboratoria hebben de gevoeligheid voor clarithromycine in plaats van voor erythromycine bepaald

⁶ Eén van deze beide laboratoria bekwam dit resultaat met de diskdiffusie en vermeldde dat bevestiging door MIC-bepaling noodzakelijk is.

⁷ Vijf laboratoria die enkel de diskdiffusie uitvoerden, vermeldden dat MIC-bepaling noodzakelijk is.

⁸ Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte fluorochinolone niet.

1.2.2. *Streptococcus pneumoniae* M/11283

Deze kiem werd gekenmerkt door een specifiek resistentiepatroon dat gelinkt kon worden aan het veelvuldig, niet-medisch gecontroleerd antibioticagebruik van de patiënt.

De resistentie tegen macroliden en gevoeligheid voor fluorochinolones werd door een grote meerderheid van de laboratoria correct vastgesteld.

Voor de resultaten van benzylpenicilline is de evaluatie echter heel wat complexer. De gemeten MIC-waarden vallen goed mee, de interpretatie van deze resultaten (tabel 1.2.3.) is echter heel minder eensluidend. Dit is ongetwijfeld het gevolg van een reeds lang gekende paradox tussen gemeten MIC-waarden voor pneumokokken, gebaseerd op MIC-distributies, en klinische resultaten bij de behandeling van pneumokokken infecties. Dit heeft geleid tot de zogenaamde PK/PD breekpunten, die de laatste jaren meer en meer ingang kregen zowel in de CLSI als de EUCAST norm (tabel 1.2.2).

Deze stam werd geïsoleerd uit het sputum van een COPD patiënt. Voor de interpretatie van de bekomen MIC-waarden moet men bijgevolg de criteria gebruiken van "non-meningitis" isolaten. In onderstaande tabel 1.2.2. worden de richtlijnen anno 2012 van CLSI en EUCAST weergegeven. De breekpuntconcentraties voor meningitis isolaten wijzigden niet. Het lijkt aangewezen om de commentaren vermeld in de CLSI of EUCAST naast het resultaat te rapporteren.

Norm		S	I	R	Commentaren
CLSI 2012	meningitis	≤ 0.06		≥ 0.12	A
	non meningitis	≤ 2	4	≥ 8	B
	oral (penicillin V)	≤ 0.06	0.12 - 1	≥ 2	
EUCAST 2012	meningitis	≤ 0.06		≥ 0.12	
	non meningitis	≤ 0.06	0.12 - 2	≥ 4	C

Commentaren bij tabel 2

- A. Ten minste 3 miljoen IE eenheden om de vier uren voor een volwassene met een normale nierfunctie (2).
- B. Ten minste 2 miljoen IE eenheden om de vier uren voor een volwassene met een normale nierfunctie (12 miljoen IE per 24 u) voor stammen met een MIC ≤ 2 mg/L. Voor stammen met een MIC van 4 mg/L 18 tot 24 miljoen IE per 24 u) (2).
- C. Bij pneumonie vereisen stammen met een MIC ≤ 0.5 mg/L 1.2 g x 4 penicilline-G.
Bij pneumonie vereisen stammen met een MIC ≤ 1 mg/L 2.4 g x 4 of 1.2 g x 6 penicilline-G.
Bij pneumonie vereisen stammen met een MIC ≤ 2 mg/L 2.4 g x 6 g penicilline-G.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globale rapport 2012/1.

Tabel 1.2.3. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/11283 (*Streptococcus pneumoniae*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	S/I	S/R	I	I/R	R	*
Penicilline	S	162	26 ¹	2 ²	3 ³	33 ⁴	1 ⁵	89 ⁶	8 ⁷
Azithromycine ⁸	R	1	-	-	-	-	-	1	-
Clarithromycine ⁹	R	2	-	-	-	-	-	2	-
Erythromycine	R	160	-	-	-	-	-	160	-
Doxycycline ¹⁰		11	5	-	-	4	-	2	-
Tetracycline	R	131	13	-	-	5	-	112	1 ¹¹
Levofloxacin	S	114	112 ¹²	-	-	1	-	1	-
Moxifloxacin	S	125	124	-	-	-	-	1	-

- ¹ Drie laboratoria voorzagen dit antwoord van een opmerking:
- opmerking voor clinicus: bij pneumonie kan deze stam als gevoelig worden beschouwd bij een dosis penicilline van 6 x 2.4 g/d
 - Breekpunten penicilline (E-test) afhankelijk van dosering: gebruikt breekpunt is dit bij dosering van 2,4g x 4 of 1,2 x 6
 - interpretatie voor parenterale penicilline
- ² Deze beide laboratoria voorzagen dit antwoord van een opmerking:
- bij gebruik van penicilline dosis 2.4gx6: isolaat met MIC ≤ 2 $\mu\text{g/ml}$ = gevoelig
 - I als perorale behandeling, S als parenterale behandeling
- ³ Deze drie laboratoria voorzagen dit antwoord van een opmerking:
- twee laboratoria: R als perorale behandeling, S als parenterale behandeling
 - één laboratorium: R als meningitis, S als niet-meningitis
- ⁴ Twee laboratoria voorzagen dit antwoord van een opmerking:
- bij pneumonie kan een MIC ≤ 2 als gevoelig worden aanzien bij een dosis van 2.4g x 6
- ⁵ Stam is gevoelig aan penicilline in hoge dosis in geval van pneumonie
- ⁵ Dit laboratorium verzag dit antwoord van de opmerking: R als perorale behandeling, I als parenterale behandeling
- ⁶ Drie laboratoria voorzagen dit antwoord van een opmerking:
- E-test noodzakelijk (labo voerde enkel diskdiffusie uit)
 - resistent aan hoge doses penicilline (MIC penicilline = 2 mg/l; MIC cefotaxime = 0.75 mg/l) als meningitis: aan cefotaxime (300 mg/kg/dag) of ceftriaxone (100 mg/kg/dag) vancomycine (60 mg/kg/dag) associëren
 - breekpunten orale penicilline V genomen gezien klinische inlichtingen
- ⁷ Vier laboratoria, die enkel diskdiffusie uitvoerden, vermeldden dat een MIC-bepaling noodzakelijk is. Vier andere laboratoria gaven een opmerking:
- MIC penicilline = 2 mg/L. Als penicilline parenteraal toegediend wordt, is de stam gevoelig; als penicilline peroraal toegediend wordt, is de stam resistent
 - Voor pneumonie MIC ≤ 2 mg/L = S indien hoge dosis penicilline gebruikt wordt. Voor meningitis MIC 0,06 = R
 - In functie van dosis = pneumonie 2,7gx 4 of 1,2 x 6 isolaten met MIC ≤ 1 : S
 - oxa 1 R \rightarrow MIC amoxicilline 4 $\mu\text{g/ml}$ \rightarrow stam met verminderde gevoeligheid: behandelen met hoge dosis
- ⁸ Eén laboratorium heeft de gevoeligheid voor azithromycine in plaats van voor erythromycine bepaald
- ⁹ Twee laboratoria hebben de gevoeligheid voor clarithromycine in plaats van voor erythromycine bepaald
- ¹⁰ Elf laboratoria hebben de gevoeligheid voor doxycycline in plaats van voor tetracycline bepaald
- ¹¹ Eén laboratorium verstrekke het antwoord: "Discordante tetracycline tussen Vitek2 ("R") en diskdiffusie ("S"): doorsturen naar referentielab indien nodig".
- ¹² Eén laboratorium gaf de opmerking: "Rosco beveelt aan een reserve in te bouwen "stam met risico op mutatie en resistentie aan fluoroquinolones " voor de stammen die S ($\phi \geq 18$ mm) zijn maar met een diameter < 20 mm."

1.2.3. *Escherichia coli* M/11407

Deze kiem werd gekenmerkt door de aanwezigheid van een “geïsoleerde” fosfomycine-resistentie, die door de meerderheid van de laboratoria aangetoond werd.

Het commentaar op de enquête ging dieper in op de indicaties en gevoeligheidsbepalingen voor fosfomycine.

Fosfomycine bezit een goede activiteit op de meest voorkomende verwekkers van lagere urinewegeninfecties (*E. coli*). Bij therapiefalen met fosfomycine kan een urinecultuur aangewezen zijn. Voor **multiresistente Enterobacteriën is fosfomycine op basis van het antibiogram dikwijls een bruikbare optie.**

Tabel 1.2.4. geeft een duidelijk overzicht van de criteria volgens de verschillende organisaties.

Tabel 1.2.4.: Criteria voor het testen van fosfomycine							
Norm	Lading schijfje	Zone diameter (mm)			MIC (mg/L) brekpunt		
		S	I	R	S	I	R
CLSI 2012	200 µg *	≥ 16	13 – 15	≤ 12	≤ 64	128	≥ 256
SFM 2011	50 µg *	≥ 14		< 14	≤ 32		> 32
EUCAST					≤ 32		> 32

* + 50 µg glucose-6-fosfaat

Onderstaande tabel met de resultaten van de enquête werd gepubliceerd in het globaal rapport 2012/1.

Tabel 1.2.5.: Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/11407 (*Escherichia coli*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Amoxicilline ¹	S	2	2	-	-	-
Ampicilline	S	160	152	4	3 ²	1 ³
Amoxicilline-clavulaanzuur	S	163	161	-	1	1 ⁴
Cefuroxime	S	158	146 ⁵	6	5	1 ⁶
Fosfomycine	R	120	3 ⁷	5	112 ⁸	-
Chinolone						
Ciprofloxacine	S	122	113 ⁹	9 ¹⁰	-	-
Levofloxacine	S	12	12	-	-	-
Nalidixinezuur	S	7	7	-	-	-
Norfloxacine		41	17	2	22	-
Ofloxacine	S	2	1	-	1	-
Chinolone ¹¹	S	3	2	-	1	-

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

² Eén laboratorium gaf de opmerking: “gezien ampicilline S en amoxicilline-clavulaanzuur en cefuroxime R zouden wij naar de kliniek R doorgeven”

³ Eén laboratorium gaf wel het kwantitatieve resultaat (≤2 mg/L, Vitek 2) maar niet de interpretatie hiervan.

⁴ Eén laboratorium gaf wel het kwantitatieve resultaat (4 mg/L, Vitek 2) maar niet de interpretatie hiervan.

⁵ Twee laboratoria gaven hierbij de opmerking dat deze interpretatie geldig is voor een dosering van 3 x 1.5 mg.

⁶ Eén laboratorium gaf wel het kwantitatieve resultaat (4 mg/L, Vitek 2) maar niet de interpretatie hiervan.

⁷ Eén laboratorium gaf de opmerking: “Aanwezigheid van kolonies in de inhibitiezone: moet niet in rekening gebracht worden volgens de SFM”

⁸ Eén laboratorium gaf de opmerking: “Beoordeeld als R wegens de aanwezigheid van resistente mutanten”

⁹ Eén laboratorium gaf de opmerking: “Stam met verminderde gevoeligheid voor ciprofloxacine”

¹⁰ Eén laboratorium gaf de opmerking: “S→I op basis van resistentie voor norfloxacine”

¹¹ Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte fluorochinolone niet.

1.2.4. *Streptococcus mitis* M/11417

Hoewel deze kiem vanuit didactische gronden verstuurd werd (cfr. hoofdstuk 1.1), werd er hiervoor toch een antibiogram gevraagd omwille van het resistentiepatroon (gevoelig voor de β -lactams en resistent tegen de macroliden, clindamycine, tetracycline en fluoroquinolones).

Zoals eveneens reeds vermeld in hoofdstuk 1.1, heeft de bijzonderheid van deze kiem ertoe geleid dat vele labo's deze kiem als *S. pneumoniae* geïdentificeerd hebben.

Het commentaar benadrukte dat het niet steeds mogelijk is om met geautomatiseerde of moleculaire technieken correcte identificaties te bekomen en dit anderzijds uit klinisch oogpunt uiterst belangrijk is, zijn de klinische laboratoria aangewezen op het uitvoeren van een reeks klassieke fenotypische testen om met meer zekerheid deze a-hemolytische streptokokken te identificeren. De routine identificatie van *S. pneumoniae* berust op optochine (ethylhydrocupreine HCl)-gevoeligheid (na incubatie in 5% CO₂) en de galsolubilitestest. Deze beide methoden werden uitgebreid beschreven in het globaal rapport 2012/2.

In het commentaar werd eveneens vermeld dat men op basis van de identificatie de gepaste criteria moet gebruiken bij het uitvoeren van het antibiogram. Zowel CLSI als EUCAST gebruiken ietwat verschillende criteria voor *S. pneumoniae* en viridans streptokokken. De oxacilline 1 μ g disk kan bijvoorbeeld niet gebruikt worden voor viridans streptokokken volgens CLSI; een MIC methode dringt zich op. In het globaal rapport 2012/2 werd een tabel gepubliceerd die voor enkele antibiotica de diskdiffusie-criteria voor enkele belangrijke antibiotica weergeeft. Gezien deze verschillende criteria, vermelden wij hieronder de antibiogrammen van de labo's die *S. mitis*/*S. oralis*/*S. viridans*/... geantwoord hebben en de antibiogrammen van de labo's die *S. pneumoniae* geantwoord hebben, in aparte tabellen.

Tabel 1.2.6. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/11417 (*Streptococcus mitis*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Penicilline	S	47	25	17	2	3 ¹
Erythromycine	R	43	-	-	41	2 ²
Clarithromycine ³	R	1	-	-	1	-
Tetracycline	R	31	-	-	30	1 ⁴
Doxycycline ⁵		2	1	1	-	-
Cefotaxime	S	32	28	-	3	1 ⁶
Ceftriaxone ⁷	S	5	5	-	-	-
Clindamycine	R	42	-	-	41	1 ⁸
Chinolone						
Ciprofloxacin	R	4	-	-	4	-
Levofloxacin	R	17	-	-	16	1 ⁹
Moxifloxacin	R	15	-	-	14	1 ¹⁰
Norfloxacin	R	1	-	-	1	-
Ofloxacin	R	3	-	-	3	-
Chinolone ¹¹	R	1	-	-	1	-

¹ Eén labo, dat enkel de diskdiffusie uitvoerde, vermeldde dat de MIC-bepaling noodzakelijk is. Eén labo dat een MIC van 0.19 mg/L bekam, antwoordde "Resultaat bevindt zich tussen de categorieën S: \leq 0.12 en I: 0.25 - 2.0. Geen interpretatie: staal zou in routine naar het referentiecentrum gestuurd worden." Een derde labo gaf het antwoord: "S. mitisgroep: AB wordt niet gerapporteerd".

² Eén labo gaf wel het resultaat van de MIC-bepaling bekomen met de Phoenix weer (>0.5 mg/L) maar niet de interpretatie hiervan. Een tweede labo gaf het antwoord: "S. mitisgroep: AB wordt niet gerapporteerd".

- ³ Eén labo bepaalde de gevoeligheid voor clarithromycine i.p.v. voor erythromycine.
⁴ Eén labo gaf wel het resultaat van de MIC-bepaling bekomen met de Phoenix weer (>4 mg/L) maar niet de interpretatie hiervan.
⁵ Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor doxycycline i.p.v. voor tetracycline.
⁶ Eén labo gaf wel het resultaat van de MIC-bepaling bekomen met de MICE-test weer (0.25 mg/L) maar niet de interpretatie hiervan.
⁷ Een aantal laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor ceftriaxone i.p.v. voor cefotaxime.
⁸ Eén labo gaf het antwoord: "S. mitisgroep: AB wordt niet gerapporteerd".
⁹ Eén labo gaf wel het resultaat van de MIC-bepaling bekomen met de Phoenix weer (>4 mg/L) maar niet de interpretatie hiervan.
¹⁰ Eén labo vermeldde dat voor de EUCAST guidelines 2011 ("other streptococci") er geen diameter en breekpunten opgegeven zijn voor dit antibioticum.
¹¹ Eén labo vermeldde de naam van het gebruikte fluorochinolone niet.

Tabel 1.2.7. Globaal overzicht van de resultaten voor het antibiogram bekomen door de laboratoria die *Streptococcus pneumoniae* geantwoord hebben voor staal M/11417.

Antibioticum	Totaal	S	S/I	S/R	I	R	*
Penicilline	107	51 ¹	4 ²	1 ³	38 ⁴	9	4 ⁵
Amoxicilline	3	2	-	-	-	1	-
Ampicilline	2	1	-	-	-	1	-
Erythromycine	108	-	-	-	1	107	-
Clarithromycine	2	-	-	-	-	2	-
Tetracycline	89	4	-	-	3	82	-
Doxycycline	6	1	-	-	1	4	-
Minocycline	1	-	-	-	-	1	-
Cefotaxime	87	75 ⁶	-	-	9	-	3 ⁷
Ceftriaxone	6	6	-	-	-	-	-
Cefoxitine	1	1	-	-	-	-	-
Clindamycine	87	-	-	-	-	87	-
Chinolone							
Ciprofloxacin	17	-	-	-	-	17	-
Levofloxacin	46	1	-	-	1	43	1 ⁸
Moxifloxacin	40	1	-	-	-	39	-
Norfloxacin	4	-	-	-	-	4	-
Ofloxacin	8	1	-	-	1	6	-
Chinolone	2	-	-	-	-	2	-

¹ Eén labo (dat enkel diskdiffusie uitvoert) gaf hierbij de opmerking: "Staal zou worden doorgestuurd voor MIC-bepaling penicilline en cefotaxime naar het fusielabo. Resultaat zelfde dag gekend: → MIC-bepaling zal resultaat peni geven".

² Deze vier laboratoria gaven hierbij de opmerking dat de stam gevoelig is bij parenterale toediening en intermediair bij orale toediening.

³ Dit labo gaf hierbij de opmerking "niet-meningitis: S; meningitis: R".

⁴ Eén labo gaf hierbij de opmerking dat de stam intermediair is en dat in geval van afname van CSV hoge dosis penicilline moet toegediend worden.

⁵ Deze vier laboratoria die enkel diskdiffusie uitvoeren, vermeldden dat MIC-bepaling noodzakelijk is.

⁶ Eén labo geeft hierbij de opmerking: "Gevoelig want oculaire afname; als CSV → MIC uitvoeren".

⁷ Deze drie laboratoria die enkel diskdiffusie uitvoeren, vermeldden dat MIC-bepaling noodzakelijk is.

⁸ Eén labo dat enkel diskdiffusie uitvoerde vermeldde wel de diameter (9 mm.) en het ruw resultaat ("R") maar niet de finale interpretatie.

1.2.5. *Enterococcus faecium* M/11681

De bijzonderheid van deze stam was dat ze ampicilline-gevoelig was maar resistent tegen trimethoprim-sulfamethoxazole en de chinolones.

Over het algemeen stelde dit weinig problemen aan de laboratoria.

Het commentaar op de enquête beschreef het pathogeen vermogen, de epidemiologie en de antibiotica-gevoeligheid van de enterokokken.

E. faecalis en *E. faecium* vertonen een intrinsieke **natuurlijke resistentie tegen b-lactams** door de aanwezigheid van een PLP5 met een geringe affiniteit voor de penicillines. Deze PLP5 leidt tot een high level resistentie tegen oxacilline, de cefalosporines en de monobactams. Een **verworven resistentie** tegen de b-lactams **bij *E. faecalis* is zeldzaam** en ofwel het gevolg van een wijziging van het PLP5 ofwel van de productie van een penicillinase (nog niet waargenomen in Europa). Een **verworven kruisresistentie tegen alle b-lactams** wordt daarentegen wel **frequent** vast gesteld **bij *E. faecium***. Een intermediaire resistentie wordt veroorzaakt door een kwantitatieve toename van het PLP5 terwijl een high level resistentie veroorzaakt wordt door een structurele wijziging van het PLP5.

Een **routine-antibiogram voor enterokokken moet steeds ampicilline omvatten**. Het resultaat van de gevoeligheidsbepaling voor ampicilline zal toelaten om de gevoeligheid te bepalen voor ampicilline, amoxycilline en piperacilline met of zonder inhibitoren. Bovendien kan een *E. faecium* die **resistent is tegen ampicilline** beschouwd worden als **resistent tegen alle b-lactams met inbegrip van imipenem** maar het omgekeerde klopt niet. Gevoeligheid van *E. faecium* voor ampicilline mag niet geïnterpreteerd worden als gevoeligheid voor imipenem dat een veel geringere natuurlijke activiteit voor deze stam vertoont.

Tot slot mag gevoeligheid van een enterokok voor ampicilline niet geïnterpreteerd worden als gevoeligheid voor penicilline. In geval van ernstige enterokokken-infecties (b.v. endocarditiden), is de bepaling van de MIC van penicilline/ampicilline aangewezen. EUCAST geeft geen MIC-waarden op voor penicilline maar verwijst naar de nationale en internationale richtlijnen voor behandeling van endocarditis. De aanbevelingen van de BSAC (British Society for Antimicrobial Chemotherapy) raden een MIC-waarde van ≤ 4 mg/L aan voor penicilline terwijl de aanbevelingen van de ESC (European Society of Cardiology) ≤ 8 mg/L vooropstellen.

De enterokokken hebben een **natuurlijke resistentie tegen lage concentraties van aminosiden** ten gevolge van een lage permeabiliteit van de wand voor deze antibiotica. Deze resistentie vormt **geen contra-indicatie voor een gecombineerde behandeling met een b-lactam** die het binnendringen van de aminoside in de cel zal vergemakkelijken. Belangrijk om op te merken is dat *E. faecium* van nature een enzyme produceert dat amikacine, kanamycine, tobramycine en netilmicine wijzigt en op deze wijze hun synergie met de b-lactams te niet doet. De enterokokken kunnen eveneens **verworven high level resistenties** vertonen tegen aminoglycosiden. De **combinatietherapie** van een resistent aminoglycoside met een b-lactam tegen ernstige infecties zal dan **niet meer efficiënt zijn**. Dit enzyme heeft geen invloed op gentamicine, het aminoglycoside dat bij voorkeur gebruikt wordt in de combinatietherapie voor enterokokken-endocarditis.

We worden in Europa geconfronteerd met het verschijnen van enterokokken die **resistent zijn tegen glycopeptiden (VRE)**, wat zowel een therapeutisch als epidemiologisch probleem vormt. De verworven resistentie veroorzaakt door het **vanA gen** wordt voornamelijk teruggevonden bij *E. faecium* en uit zich door een **resistentie tegen vancomycine en teicoplanine**. De verworven resistentie

veroorzaakt door het **vanB** gen wordt voornamelijk teruggevonden bij ***E. faecalis*** en uit zich door een **resistentie tegen vancomycine**. In dit geval wordt een langdurige behandeling met amoxicilline, alleen of in associatie met streptomycine (MIC moet getest worden), aangeraden voor de behandeling van endocarditis.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2012/2.

Tabel 1.2.8.: Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/11681 (*Enterococcus faecium*)

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Ampicilline	S	159	159	-	-	-
Gentamicine	S	144	135	4 ¹	5	-
Vancomycine	S	159	158	-	1	-
Teicoplanine	S	127	125	-	1	1 ²

¹ Eén laboratorium voorziet het antwoord "I" van een opmerking: "Low level resistentie."

² Eén labo dat enkel diskdiffusie uitvoerde vermeldde wel de diameter (20 mm.) maar niet de interpretatie

1.2.6. *Klebsiella pneumoniae* M/11719, M/11720 en M/11721

Deze 3 kiemen behoorden tot de **CPE (« Carbapenemase Producing Enterobacteriaceae »)**; M/11719 was drager van het metallo- β -lactamase VIM, M/11720 was drager van een KPC en M/11721 van OXA-48.

Een groot aantal laboratoria vermeldde de aanwezigheid of het vermoeden van de aanwezigheid van carbapenemases.

Het vaststellen van de multiresistentie van M/11719 en M/11720 stelde geen problemen aan de laboratoria. De moeilijkheid van staal M/11721 wordt duidelijk geïllustreerd door de vele opmerkingen die de laboratoria gaven (cfr. tabel 1.2.9.) vooral de bepaling van de gevoeligheidstesten van meropenem en in mindere mate van de fluorochinolones bleken niet evident.

Het commentaar op de enquête behandelde zeer uitgebreid **de definitie, het klinisch belang, de epidemiologie, de resistentiemechanismen en de aanbevolen detectiemethoden van CPE**: u kan deze tekst terugvinden in het **globaal rapport van de enquête. Wij raden u ten zeerste aan deze tekst te raadplegen** (https://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/nl/rapports_2012.htm)

De tabellen die de classificatie van de verworven carbapenemases, de concentraties en kritische diameters van de carbapenems volgens de aanbevelingen van EUCAST en de fenotypische detectiemethoden weergeven werden in dit jaarrapport opgenomen als tabellen 1.2.10, 11 en 12.

Het commentaar besprak eveneens de 3 verstuurde kiemen. De drie *Klebsiella pneumoniae* stammen die verstuurd werden in de EKE 2012/3 waren alle drie carbapenemase-producers en beantwoordden dus aan de definitie van CPE (« Carbapenemase Producing Enterobacteriaceae »).

Stam M/11719 produceerde een metallo- β -lactamase (klasse B van Ambler) van het type VIM-1 (Verona IMipenemase). Stam M/11720 produceerde een carbapenemase van het type KPC (*Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase, klasse A van Ambler), en stam M/11721 was drager van een carbapenemase van het type OXA-48 (klasse D van Ambler).

De speciesidentificatie stelde geen problemen, bijna alle laboratoria hebben de drie species correct geïdentificeerd als *Klebsiella pneumoniae*.

Ondanks de diversiteit in de gebruikte complementaire testen bij het antibiogram, hebben de meeste laboratoria de aanwezigheid van een carbapenemase gedetecteerd of vermoed (met de precisering dat ze een dergelijke stam naar het referentiecentrum zouden sturen voor zijn identificatie als CPE). Zoals gevraagd in de kwaliteitscontrole, hebben een aantal laboratoria voorgesteld bijkomende antibiotica te testen op de 3 stammen; de meest vermelde waren colistine, tigecycline en gentamicine

Stammen M/11719 en M/11720 vertoonden een high level resistentie tegen de carbapenems (MIC \geq 32 mg/L) en waren daarenboven resistent tegen alle geteste antibiotica. Een aantal laboratoria hebben bijkomende testen uitgevoerd (synergietest via de schijfjesmethoden gecombineerd met een specifieke inhibitor, gewijzigde Hodgetest, MIC via E test voor temocilline,...). Stam M/11719 produceerde geen ESBL (gevoeligheid voor aztreonam was nog aanwezig, gezien dit antibioticum niet gehydrolyseerd wordt door metallo- β -lactamases) terwijl stam M/11720 coproducer was van een ESBL van het type SHV-12. De detectie van ESBL of van andere types van β -lactamases is moeilijk aan te tonen door fenotypische testen aangezien de aanwezigheid van deze β -lactamases (aan te tonen door de synergie tussen cefalosporines van de derde generatie en clavulaanzuur) gemaskeerd kan worden door het carbapenemase. Bij CPE, kan een geassocieerde ESBL fenotypisch aangetoond worden door gebruik van

synergietesten in aanwezigheid van specifieke inhibitoren van carbapenemasen (vb: EDTA voor de metallo- β -lactamasen, arylboorzuur voor de carbapenemasen van klasse A). Nochtans lijkt de detectie van een ESBL in aanwezigheid van een carbapenemase van secundair belang zowel wat betreft kliniek als ziekenhuishygiëne

Stam M/11721 produceerde slechts één enkel enzyme van het type OXA-48, dat een low level expressie vertoonde met een MIC voor meropenem van 0.25 mg/L en een inhibitiezone van 22 mm (limietgevoeligheid). Indien men zich enkel baseert op de kritische concentraties voor klinische categorisering zoals gedefinieerd door EUCAST, zou een dergelijke stam nog als gevoelig beschouwd worden en het is dus belangrijk de screeningsdrempelwaarden voor detectie van low level carbapenemasen in rekening te brengen. Deze stam stelde de meeste problemen, meer dan de helft van de laboratoria rapporteerden de stam als gevoelig of intermediair (ruw resultaat). Wat betreft de klinische interpretatie raadt EUCAST momenteel aan om de gevoeligheid voor carbapenems effectief te rapporteren in functie van de MIC-waarden en de resultaten niet te wijzigen op basis van de aanwezigheid van een carbapenemase. Deze aanbeveling blijft echter controversieel **want er bestaan slechts weinig klinische gegevens die de therapeutische efficiëntie van carbapenems aantonen in geval van infectie door CPE-stammen waarvan de MIC lager ligt dan de kritische concentraties van de klinische drempels (en dus nog gevoelig)**. Met betrekking tot de rapportage van het resultaat is het geraadzaam, zeker in het kader van ernstige infecties (vb. : positieve hemoculturen) **een commentaar toe te voegen dat preciseerd dat het gebruik van carbapenems in dergelijke situatie enkel mogelijk is na overleg tussen de clinicus en de microbioloog of infectioloog**.

In geval van een infectie met een CPE is het belangrijk dat **de laboratoria kwantitatieve methoden (MIC-bepalingen) gebruiken**, die toelaten om met precisie en volgens een standaardprotocol de gevoeligheid of resistentie van deze stammen te bepalen voor carbapenems en eventuele andere antibiotica-klassen, waarvan men zou overwegen ze te gebruiken in de behandeling.

In geval van carbapenem-therapie, is het eveneens van groot belang de MIC-waarde van de stam te controleren met een andere methode (vb: E test of microdilutie) dan deze die gebruikt wordt voor het routine-antibiogram. In geval van discordantie tussen de resultaten, moet men rekening houden met het resultaat van de referentiemethode (i.e: MIC via microdilutie in bouillon). In België zijn microdilutieplaten van Sensititre beschikbaar (Sensititre® GNX2F panels, Trek Diagnostic Systems, Cleveland, USA).

Ook hier hebben een groot aantal laboratoria de aanwezigheid van een carbapenemase vermoed of herkend en hebben correct gesuggereerd dat een dergelijke stam naar het referentielaboratorium gezonden moet worden voor bevestiging van het resistentiemechanisme.

Op elke verdachte stam die het referentiecentrum ontvangt voert het eerst fenotypische testen uit (bevestiging van de bacteriële identificatie met MALDI-TOF MS, uitgebreid antibiogram (16 antibiotica) met agar diskdiffusie, hydrolyse testen van de carbapenems door de carba NP test). In functie van de resultaten hiervan, worden 2x per week (dinsdag en donderdag) complementaire testen uitgevoerd (gen amplificatie via multiplex PCR). Positieve resultaten voor CPE worden langs elektronische weg meegedeeld, en de definitieve papieren protocollen worden eenmaal per week uitgedrukt (elke vrijdag). De maximum turn around time van het NRC voor ESBL/Carbapenemase was 10 dagen en overschreed in meer dan 90% van de gevallen de 7 dagen niet.

Om het antwoord te versnellen vraagt het referentiecentrum met aandrang aan de externe laboratoria om verse culturen op agarmilieu op te sturen liever dan in diepe bodems (aangezien in deze gevallen de stam eerst op agar overgeënt moet worden, wat het uitvoeren van de testen met 24 uur vertraagt).

Onderstaande tabellen met resultaten werden gepubliceerd in het globaal rapport 2012/3.

Tabel 1.2.7.: Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Ampicilline	R	161	-	-	161	-
Amoxicilline ¹	R	1	-	-	1	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	R	163	-	-	163	-
Cefuroxime	R	160	-	-	160	-
Ceftazidime	R	162	-	-	161	1 ²
Piperacilline-tazobactam	R	155	-	-	155	-
Meropenem	R	154	-	-	154 ³	-
Imipenem ⁴	R	5	-	-	5	-
Ertapenem ⁵	R	2	-	-	2	-
Levofloxacin	R	92	-	-	91	1 ⁶
Ofloxacin ⁷	R	1	-	-	1	-
Ciprofloxacin	R	157	-	-	157	-
Amikacin	R	151	3	14	134	-
Gentamicine ⁸		3	3	-	-	-

¹ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor amoxicilline i.p.v. ampicilline.

² Eén laboratorium vermeldde wel de MIC-waarde bekomen met de Vitek 2 compact (≥ 64 $\mu\text{g/mL}$) voor ceftazidime maar niet de interpretatie hiervan.

³ Eén laboratorium gaf het antwoord "R" maar voorzag dit van de opmerking: "Carbapenemase +: stam doorgestuurd naar referentielabo voor bevestiging carbapenemase; meropenem wordt normaal niet doorgegeven"

⁴ Vijf laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor imipenem i.p.v. meropenem.

⁵ Twee bepaalden de gevoeligheid voor ertapenem i.p.v. meropenem.

⁶ Eén laboratorium vermeldde wel de MIC-waarde bekomen met de Vitek 2 compact (≥ 8 $\mu\text{g/mL}$) voor levofloxacin maar niet de interpretatie hiervan.

⁷ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor ofloxacin i.p.v. levofloxacin.

⁸ Drie laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor gentamicine i.p.v. amikacin.

Tabel 1.2.8.: Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Ampicilline	R	161	-	-	161	-
Amoxicilline ¹	R	1	-	-	1	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	R	163	-	-	163	-
Cefuroxime	R	160	-	-	160	-
Ceftazidime	R	162	-	-	161	1 ²
Piperacilline-tazobactam	R	154	-	-	154	-
Meropenem	R	155	-	-	155 ³	-
Imipenem ⁴	R	4	-	-	4	-
Ertapenem ⁵	R	2	-	-	2	-
Levofloxacin	R	93	-	-	92	1 ⁶
Ofloxacin ⁷	R	1	-	-	1	-
Ciprofloxacin	R	156	-	-	156	-
Amikacin	R	151	2	6	143	-
Gentamicine ⁸		4	4	-	-	-

¹ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor amoxicilline i.p.v. ampicilline.

² Eén laboratorium vermeldde wel de MIC-waarde bekomen met de Vitek 2 compact (≥64 µg/mL) voor ceftazidime maar niet de interpretatie hiervan.

³ Eén laboratorium gaf het antwoord "R" maar voorzag dit van de opmerking: "Carbapenemase +: stam doorgestuurd naar referentielabo voor bevestiging carbapenemase; meropenem wordt normaal niet doorgegeven"

⁴ Vier laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor imipenem i.p.v. meropenem.

⁵ Twee bepaalden de gevoeligheid voor ertapenem i.p.v. meropenem.

⁶ Eén laboratorium vermeldde wel de MIC-waarde bekomen met de Vitek 2 compact (≥8 µg/mL) voor levofloxacin maar niet de interpretatie hiervan.

⁷ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor ofloxacin i.p.v. levofloxacin.

⁸ Vier laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor gentamicine i.p.v. amikacin.

Tabel 1.2.9.: Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	S/I	I	I/R	R	*
Ampicilline	R	161	-	-	-	-	161	-
Amoxicilline ¹	R	1	-	-	-	-	1	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	R	163	-	-	-	-	163	-
Cefuroxime	S	160	123 ²	1 ³	12	-	17	7 ⁴
Ceftazidime	S	160	143 ⁵	-	4	-	8	5 ⁶
Cefotaxime ⁷		1	-	-	-	-	-	1 ⁷
Meropenem	S	151	69 ⁸	-	32 ⁹	1	37 ¹⁰	12 ¹¹
Imipenem ¹²		4	3	-	1	-	-	-
Ertapenem ¹³		3	-	-	-	-	3	-
Levofloxacin	R	74	1	-	20	-	53	-
Ofloxacin ¹⁴		1	-	-	1	-	-	-
Ciprofloxacin	R	154	-	-	23	-	131	-
Norfloxacin ¹⁵		2	-	-	-	-	2	-
Co-trimoxazole	R	160	-	-	-	-	160	-
Nitrofurantoïne	R	143	1	-	3	-	139	-
Gentamicine	S	150	146	-	2	-	2	-
Amikacin ¹⁶		4	4	-	-	-	-	-

¹ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor amoxicilline i.p.v. ampicilline.

² Twee laboratoria gaven een opmerking bij hun antwoord "S":

- Vermoeden carbapenemase: indien geconfirmeerd: cefuroxime en ceftazidime R
- OXA 48? Geen interpretatie voorgesteld (EUCAST of CLSI 2012) voor de cefalosporines. De mogelijkheid van een carbapenemase (te bevestigen) en de limiet MIC voor cefuroxime melden aan de clinicus

³ Eén laboratorium vermeldde S i.g.v. IV en I i.g.v. PO

⁴ Eén laboratorium vermeldde wel de met de Phoenix bekomen MIC (8 mg/l) maar gaf geen interpretatie.

Zes andere laboratoria gaven een opmerking:

- twee laboratoria wachten op het resultaat van het referentiecentrum
 - contacteer microbioloog voor bespreking (niet te vatten in S, I, R)
 - Hodge test positief; temocilline R klasse D? OXA-48?; dit AB wordt niet gerapporteerd doch er wordt contact gezocht met de arts
 - Hodgetest & doorsturen ter uitsluiting CPE (mero gevoeligheid gedaald en temo R). Resultaat afhankelijk van CPE
 - CPE. Vitek 2 system past "alert" toe: "Verdacht voor carbapenemase. Confirmeren. Stam naar referentielabo sturen." Confirmatie + met modified Hodge test. Zou in antwoord naar de aanvrager schrijven om contact op te nemen met de klinisch bioloog ivm antibiotherapie aangezien men strictu sensu geen eenduidig antwoord S, I of R kan geven. Het gaat hier trouwens om een urineweginfectie.
- ⁵ Vijf laboratoria geven een opmerking bij hun antwoord "S":
- Twee laboratoria: "Indien CPE bevestigd wordt dan ceftazidime niet aan te raden als er ook ESBL of amp C aanwezig is"
 - Vermoeden carbapenemase: indien geconfirmeerd: cefuroxime en ceftazidime R
 - OXA 48? Geen interpretatie voorgesteld (EUCAST of CLSI 2012) voor de cefalosporines. De mogelijkheid van een carbapenemase (te bevestigen) en de limiet MIC voor cefuroxime melden aan de clinicus
 - Vermoeden van carbapenemase, type OXA 48. De expertresultaten van ceftazidime en meropenem hangen af van de bevestiging van de aanwezigheid van een carbapenemase van type OXA-48. Als afwezig:→ceftazidime en meropenem gevoelig. Als aanwezig:→ceftazidime en meropenem intermediair gevoelig. Merk op: afwezigheid van CLSI guidelines voor de interpretatie van de cefalosporines (en carbapenems) in geval van aanwezigheid van een carbapenemase van type OXA 48.
- ⁶ Vijf laboratoria gaven een opmerking:
- Carbapenemase?: stam doorgestuurd naar referentielabo voor verdere bepaling carbapenem→verdacht MIC meropenem ≥ 1 ; meropenem wordt normaal niet doorgegeven naar de huisarts: hier geantwoord ivm carbapenemase. Ceftazidime ook niet (we hebben MICs vermeld voor statistieken)
 - contacteer microbioloog voor bespreking (niet te vatten in S, I, R)
 - Hodge test pos; temocilline R klasse D? OXA-48?; dit AB wordt niet gerapporteerd doch er wordt contact gezocht met de arts
 - Hodgetest & doorsturen ter uitsluiting CPE (mero gevoeligheid gedaald en temo R). Resultaat afhankelijk van CPE
 - CPE. Vitek 2 system past "alert" toe: "Verdacht voor carbapenemase. Confirmeren. Stam naar referentielabo sturen." Confirmatie + met modified Hodge test. Zou in antwoord naar de aanvrager schrijven om contact op te nemen met de klinisch bioloog ivm antibiotherapie aangezien men strictu sensu geen eenduidig antwoord S, I of R kan geven. Het gaat hier trouwens om een urineweginfectie.
- ⁷ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor cefotaxime i.p.v. ceftazidime en zou op het resultaat van het referentiecentrum wachten.
- ⁸ Vier laboratoria gaven een opmerking bij hun antwoord "S":
- CPE klasse D; CLSI 2009: meropenem 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$:→S; CLSI 2012: meropenem 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$:→R
 - Vitek AES: carbapenemase verdacht: →diskdiffusie: ertapenem: $\emptyset 19$; meropenem: $\emptyset 22$: →stam op te sturen naar reflabo
 - Klasse D CPE; Meropenem MIC = 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$: CLSI 2009 = S; CLSI 2012 = R; onze vitek software gebruikt nog CLSI 2009
 - Zal niet geantwoord worden: resultaat afhankelijk van reflab. Advies EUCAST: alle stammen met MIC meropenem ≥ 1 mg/L en zone $\emptyset \leq 23$ mm. worden doorgestuurd voor uitsluiten carbapenemase
- ⁹ Eén laboratorium gaf een opmerking bij zijn antwoord "I": "PCR voor OXA-48 was positief: er wordt een opmerking op het rapport voorzien bij meropenem: Deze kiem produceert een carbapenemase en werd bevestigd door moleculaire technieken. Behandeling met meropenem alleen overwegen na advies van infectioloog of microbioloog. Als behandeling met meropenem noodzakelijk is, moet een hoge dosis (6 g/dag) gebruikt worden."
- ¹⁰ Vijf laboratoria gaven een opmerking bij hun antwoord "R":
- twee laboratoria: " Vitek 2 meet de MIC van meropenem aan 0,5 en verhoogt deze vervolgens 3 à 4 maal. – Wij interpreteren meropenem als R (als de carbapenemase bevestigd wordt) en wij geven de MIC door aan de clinici
 - Gerapporteerd resultaat meropenem = R in afwachting van resultaten referentielabo (carbapenemase?)
 - E-test toonde kleine doorgroeikolonies in het gebied boven 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ = R
 - indien geconfirmeerd carbapenemase KPE +
- ¹¹ Eén laboratorium vermeldde wel de met de Vitek 2 bekomen MIC (4 mg/l) maar gaf geen interpretatie.
- Elf andere laboratoria gaven een opmerking:

- twee laboratoria gaven wel de bekomen diameter met de papieren schijfjes (22 mm) of Neosensitabs (23 mm) maar vermeldden dat ze het staal zouden doorsturen om de meropenemgevoeligheid te antwoorden
 - Carbapenemase?: stam doorgestuurd naar referentielabo voor verdere bepaling carbapenem→verdacht MIC meropenem ≥ 1 ; meropenem wordt normaal niet doorgegeven naar de huisarts: hier geantwoord ivm carbapenemase. Ceftazidime ook niet (we hebben MICs vermeld voor statistieken)
 - verdacht voor CPE, type OXA
 - Meropenem: expertsysteem waarschuwt voor mogelijk CPE. Alle enterobacteriaceae met MIC meropenem ≥ 1 worden naar referentiecentrum gestuurd. Dit wordt in antwoord arts vermeld: "mogelijk CPE stam, doorgestuurd naar referentiecentrum". Volgens de laatste CLSI richtlijnen is meropenem MIC 4 R, volgens EUCAST is dit I. Vitek instellingen CLSI zijn gebaseerd op CLSI 2009. Rosco Neosensitabs new voor carbapenemase screen (2009): meropenem 23 (≤ 22), imipenem 21 (≤ 22), ertapenem 17 (≤ 22): besluit meropenem alleen detecteert eventueel CPE niet. Richtlijnen 2011 meropenem screen (≤ 23):→zou deze opgepikt worden.
 - contacteer microbioloog voor bespreking (niet te vatten in S, I, R)
 - Hodge test pos; temocilline R klasse D? OXA-48?; dit AB wordt niet gerapporteerd doch er wordt contact gezocht met de arts
 - Hodgetest & doorsturen ter uitsluiting CPE (mero gevoeligheid gedaald en temo R). Resultaat afhankelijk van CPE
 - CPE. Vitek 2 system past "alert" toe: "Verdacht voor carbapenemase. Confirmeren. Stam naar referentielabo sturen." Confirmatie + met modified Hodge test. Zou in antwoord naar de aanvrager schrijven om contact op te nemen met de klinisch bioloog ivm antibiotherapie aangezien men strictu sensu geen eenduidig antwoord S, I of R kan geven. Het gaat hier trouwens om een urineweginfectie.
 - screening breakpoint $\geq 0,5$; zone ≤ 23 mm: CPE te bevestigen via PCR
 - Vermoeden van carbapenemase, type OXA 48. De expertresultaten van ceftazidime en meropenem hangen af van de bevestiging van de aanwezigheid van een carbapenemase van type OXA-48. Als afwezig:→ceftazidime en meropenem gevoelig. Als aanwezig:→ceftazidime en meropenem intermediair gevoelig. Merk op: afwezigheid van: CLSI guidelines voor de interpretatie van de cefalosporines (en carbapenems) in geval van aanwezigheid van een carbapenemase van type OXA 48.
- ¹² Vier laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor imipenem i.p.v. meropenem.
- ¹³ Drie laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor ertapenem en meropenem.
- ¹⁴ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor ofloxacin i.p.v. levofloxacin.
- ¹⁵ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor norfloxacin i.p.v. levofloxacin en ciprofloxacine en één labo i.p.v. ciprofloxacine.
- ¹⁶ Vier laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor amikacine i.p.v. gentamicine.

Tabel 1.2.10. Classificatie van de verworven carbapenemases met plasmidische overdracht en verdeling over de genera/species van Gram-negatieve bacteriën.

Moleculaire klasse (Ambler)	Carbapenemases	Entero-bacteriaceae	Niet-vergisters
A (niet-metallo)	KPC IMI, NMC, SME	+++ +	+ -
B (metallos)	IMP, VIM NDM AIM, DIM, SIM, SPM, TMB	+++ +++ -	+++ ++ +
D (niet-metallo)	OXA-48, -181 OXA-23, -40, -58, -143	+++ +/-	- +++

Tabel 1.2.11. Concentraties en kritische diameters van de carbapenems volgens de aanbevelingen van EUCAST (Versie 3.0, 1/1/2013) en screeningsdrempelwaarden voor de detectie van Enterobacteriaceae die carbapenemasen produceren (CPE).

Carbapenems	MIC (mg/L)		Agar diskdiffusie (inhibitiediameter in mm)	
	Breakpoint S/I	Screening cut-off	Breakpoint S/I	Screening cut-off
Meropenem ¹	≤2	>0.125	≥22	<25 ²
Imipenem	≤2	>1	≥22	<23
Ertapenem ³	≤0.5	>0.125	≥25	<25

¹ Beste compromis tussen gevoeligheid en specificiteit.

² Volgens de Belgische ervaring, hebben een belangrijk aantal stammen die de OXA-48 carbapenemasen produceren een inhibitiezone voor meropenem die groter is dan de screeningsdrempelwaarde die momenteel door EUCAST aanbevolen wordt (zone van 24-26 mm); in geval van een bewezen epidemie door een CPE die het carbapenemase OXA-48 produceert, is het aangewezen een screeningsdrempel te hanteren voor meropenem van <27 mm, hoewel dit een vermindering van de specificiteit van de test kan meebrengen.

³ Hoge gevoeligheid maar lage specificiteit (meer bepaald voor *Enterobacter* spp); het gebruik van enkel ertapenem (zonder meropenem) wordt niet aanbevolen; in geval van een bewezen epidemie kan het gebruik van ertapenem als screening daarentegen zeer interessant zijn vanwege zijn hoge gevoeligheid in de detectie van CPE (meer bepaald OXA-48 en KPC).

We dienen op te merken dat de antibiotica-galerijen van de automaten carbapenemconcentraties (ertapenem en meropenem) bevatten die te hoog zijn (de laagste concentratie bedraagt meestal 1 mg/L), hetgeen helaas niet toelaat ze te gebruiken in de screening voor CPE.

Tabel 1.2.12. Fenotypische detectiemethoden via synergie met verschillende carbapenemase-inhibitoren

β-lactamase	Synergie in aanwezigheid van meropenem schijfjes (10-µg) in combinatie met verschillende inhibitoren			Temocilline (MIC >128 mg/L)
	DPA/EDTA	Boorzuur (APBA)	CLOX	
MBL	≥5	-	-	+
KPC	-	≥4	-	V
OXA-48-like¹	-	-	-	+
AmpC + porin loss	-	≥4	≥5	V
ESBL + porin loss	-	-	-	-

MBL=metallo-β-lactamase, KPC=*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, DPA= dipicolinezuur, EDTA=ethylenediaminetetraacetic acid, APBA= aminofenyl boorzuur, CLOX= cloxacilline.

¹ Het is aanbevolen temocilline te testen in geval er geen enkele synergie vastgesteld wordt in aanwezigheid van specifieke inhibitoren, ten einde de stammen met ESBL en porineverlies te onderscheiden van de OXA-48.

II. PARASITOLOGIE

Er werden in 2012 drie enquêtes voor de evaluatie van het parasitologisch onderzoek georganiseerd.

2.1. Enquête 1

Er werden 2 bloeduitstrijkjes (P/9684 en P/11464) verstuurd. Laboratoria met even en oneven erkenningsnummer ontvingen echter een verschillend staal onder hetzelfde staalnummer P/11464.

172 laboratoria namen deel aan de enquête.

De uitstrijkjes waren iets ouder, wat kan verklaren waarom een aantal laboratoria moeilijkheden ondervonden om de stalen optimaal te kleuren.

Staal P/9684 bevatte gametocyten van *Plasmodium falciparum*.

Plasmodium falciparum (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd geantwoord door 170 (98.8%) laboratoria. De gametocyten werden teruggevonden door 168 (97.7%) onder hen.

Staal P/ 11464 (even laboratoria) bevatte trofozoïeten van *Plasmodium ovale*. Dit staal werd reeds in de enquête 2007/3 verstuurd onder staalnummer P/7870. Het antwoord Plasmodium non-falciparum werd eveneens als correct beschouwd.

Plasmodium ovale (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd geantwoord door 18/101 (17.8%) laboratoria. 27 (26.7%) antwoordden Plasmodium non-falciparum en 28 (27.7%) Plasmodium species.

20 (19.8%) laboratoria gaven het antwoord *Plasmodium falciparum*.

Alle laboratoria die *Plasmodium ovale* antwoorden, vonden de trofozoïeten terug.

Staal P/ 11464 (oneven laboratoria) bevatte trofozoïeten van *Plasmodium ovale*. Dit staal werd reeds in de enquête 2010/2 verstuurd onder staalnummer P/9405. Het antwoord Plasmodium non-falciparum werd eveneens als correct beschouwd.

Plasmodium ovale (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd geantwoord door 29/71 (40.8%) laboratoria. 24 (33.8%) antwoordden Plasmodium non-falciparum en 13 (18.3%) Plasmodium species.

3 (4.2%) laboratoria gaven het antwoord *Plasmodium falciparum*.

26 (89.7%) laboratoria die *Plasmodium ovale* antwoorden, vonden de trofozoïeten terug.

Het commentaar op de enquête benadrukte dat '**major errors**' het **missen en het ten onrechte antwoorden van een *P. falciparum*** zijn en het **antwoorden van *Plasmodium species* zonder uitspraak over de aan- of afwezigheid van *P. falciparum***. De reden waarom dit als een belangrijke fout beschouwd wordt, is de therapeutische aanpak die verschilt bij een infectie met *P. falciparum*.

Een groot aantal laboratoria stuurt zijn **stalen in routine naar het referentielaboratorium van het ITG** voor (bevestiging van) de identificatie. Laboratoria worden ten zeerste aangemoedigd om dit te doen. Naast **een dikke druppel en een uitstrijkje van goede kwaliteit**, gemaakt van vers bloed en bij voorkeur ongekleurd, vraagt het referentielaboratorium **ook 1 ml EDTA-bloed** om antigentesten en PCR te kunnen uitvoeren. Resultaten van het microscopisch onderzoek van stalen die voor 16u15 in het laboratorium toekomen, worden dezelfde dag aan het doorsturend laboratorium bezorgd.

Ondanks de toevoeging dat het staal in routine naar het referentielaboratorium zou worden gestuurd voor de identificatie tot op het niveau van de species, wordt het antwoord 'Plasmodium species' niet als correct beschouwd. De reden daarvoor is dat de bevestiging van stalen die niet op tijd in het referentielaboratorium toekomen, vertraging kan oplopen met grote klinische gevolgen. Laboratoria worden aangespoord de microscopische diagnostiek van malaria aan te vullen met een antigendeteciemethode om de kans op een correcte differentiatie tussen *P. falciparum* en de andere species te verhogen in afwachting van een definitieve identificatie of de bevestiging van de identificatie door het referentielaboratorium.

2.2. Enquête 2

Er werden 2 fecessuspensies in formol verstuurd: P/11653 en P/11751.

157 laboratoria namen deel aan deze enquête.

Staal P/11653 bevatte cysten van *Giardia lamblia* en van *Entamoeba histolytica* (en in mindere mate cysten van *Blastocystis hominis*).

Giardia lamblia (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd geantwoord door 156 (99.4%) laboratoria. De cysten werden teruggevonden door 153 (98.1%) onder hen.

Entamoeba histolytica/dispar, *histolytica* of *dispar* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd geantwoord door 80 (51.0%) laboratoria. De cysten werden vermeld door 79 (98.8%) onder hen.

23 laboratoria hebben een andere *Entamoeba* species dan *E. histolytica/dispar* geantwoord en zeven laboratoria "*Entamoeba* species".

Blastocystis hominis (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd geantwoord door 37 (23.6%) laboratoria. De cysten werden vermeld door 31 (83.8%) onder hen.

Dit staal werd reeds verstuurd in de enquêtes 2006/1 (als P/6231) en 2007/1 (als P/7254). Ter gelegenheid van de enquête 2006/1 werd een PCR uitgevoerd die de identificatie *E. histolytica* bewees.

Onderstaande tabel vergelijkt de resultaten bekomen in 2006, 2007 en 2012 voor hetzelfde staal.

Tabel 2.1 Vergelijking van de resultaten voor eenzelfde staal verstuurd in de enquêtes 2006/1, 2007/1 en 2012/2.

Parasiet	P/6231 (2006/1)	P/7254 (2007/1)	P/11653 (2012/2)
<i>G. lamblia</i>	97.9%	98.9%	99.4%
<i>E. histolytica/dispar</i>	42.9%	58.9%	51.0%
<i>B. hominis</i>	26.5%	30.6%	23.6%

Het commentaar op de enquête benadrukte dat wanneer *Giardia lamblia* talrijk aanwezig is, de herkenning meestal geen probleem vormt. Voor de detectie van lagere concentraties cysten kan antigendetectie met EIA of met immunochromatografische testen nuttig zijn. Niet al deze systemen kunnen echter gebruikt worden op gefixeerde stoelgang.

Het betrof in dit staal cysten van de pathogene species *Entamoeba histolytica*. Het onderscheid met de apathogene *E. dispar* werd ten tijde van de eerste enquête in 2006 gemaakt met PCR. Een *E. histolytica*-specifieke ELISA is een mogelijk alternatief voor

PCR om de cysten van beide te differentiëren. In tabel 2.2. is een overzicht gemaakt van de manier van rapporteren in de laatste vijf enquêtes waarin gezocht werd naar cysten van *E. histolytica* of *E. dispar*. Bij de beoordeling van de correcte manier van rapporteren werd voorbij gegaan aan het feit dat men in sommige laboratoria een methode gebruikt die het onderscheid tussen beide species wel degelijk kan maken. Het is duidelijk dat de correcte manier van antwoorden doorgedrongen is in een groot deel van de Belgische laboratoria.

Tabel 2.2. Vergelijking over de verschillende enquêtes wat de correcte manier van antwoorden van cysten van *E. histolytica/dispar* betreft.

Enquête	2002/03	2006/01	2007/01	2009/01	2012/02
<i>E. histolytica/dispar</i>	10	23	34	101	68
<i>E. histolytica</i>	162	54	68	41	11
<i>E. dispar</i>	1	4	4	4	1
Totaal	173	81	106	146	80
Juiste manier van antwoorden	6%	28%	32%	69%	85%

Staal P/11751 was negatief en bevatte geen parasieten.

150 (95.5%) laboratoria antwoordden "afwezigheid van parasieten". Eén (0.6%) laboratorium heeft beide stalen verwisseld. 6 (3.8%) laboratoria rapporteerden de aanwezigheid van 1 parasiet.

2.3. Enquête 3

Er werden 2 fecessuspensies in formol verstuurd: P/11892 en P/11967. 156 laboratoria namen deel aan deze enquête.

Staal P/11892 bevatte eieren van *Taenia* species.

140 (89.7%) laboratoria vermeldden de aanwezigheid van *Taenia* species (alleen of in combinatie met andere parasieten), Het evolutiestadium "ei" werd geantwoord door 136 (97.1%) onder hen.

Het commentaar op de enquête ging dieper in op de levenscyclus en op het **verschil in pathogeniciteit tussen *T. saginata* en *T. solium*.**

***T. saginata* vertegenwoordigt geen belangrijk risico voor de mens. Het gevaar bij *T. solium* treedt op wanneer de mens, zoals het varken, als tussengastheer optreedt door ingestie van eieren en (neuro)cysticercose ontwikkelt.** De larve komt vrij uit het ei, baant zich een weg door de darmmucosa en verspreidt zich via de bloedbaan naar verschillende organen of invadeert deze rechtstreeks. Na enkele maanden ontwikkelt de mens cysticerci in het onderhuids weefsel en de spieren of het centraal zenuwstelsel. Intact veroorzaken deze cysticerci weinig inflammatie van het omliggende weefsel maar wanneer de cysticerci afsterven en antigeen lekken naar de omgeving kan een hevige reactie optreden door weefselbeschadiging. Cysticerci in het hersenweefsel geven typisch aanleiding tot epilepsie. Cysticercose komt veelvuldig voor in de ontwikkelingslanden waar varkens worden gekweekt als voedselbron, waaronder Latijns-Amerika, het grootste deel van Azië, sub-Saharisch Afrika en delen van Oceanië. In West-Europa is de infectie virtueel verdwenen en komt ze enkel voor bij immigranten en als importziekte. De diagnose wordt gesteld door klinisch onderzoek, beeldvorming en serologie (Ag-detectie

in serum of lumbaal vocht). De diagnose van *Taenia* species in de stoelgang wordt meestal gesteld door de aanwezigheid van proglottiden die differentiatie tussen beide species toelaat. Soms, zoals bij dit adoptiekind uit Ethiopië, komen eieren in de stoelgang vrij op een moment dat de proglottiden het lichaam nog niet verlaten hebben. Eieren van *T. solium* en *T. saginata* zijn niet van elkaar te onderscheiden. Zoals correct opgemerkt door verschillende deelnemers, antwoordt men dus **Taenia species als alleen eieren worden terug gevonden.**

Staal P/11967 bevatte oöcysten van *Isospora belli*.

Isospora belli (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd teruggevonden door 155 (99.4%) laboratoria. Het evolutiestadium "oöcyste" werd door 133 (85.8%) onder hen vermeld.

Dit staal werd reeds verstuurd in de enquêtes 2008/2 (als P/8315) en 2009/2 (als P/9273).

Onderstaande tabel vergelijkt de resultaten bekomen in 2008, 2009 en 2012 voor ditzelfde staal.

Tabel 2.2 Vergelijking van de resultaten voor eenzelfde staal verstuurd in de enquêtes 2008/2, 2009/2 en 2012/3.

Parasiet	P/8315 (2008/2)	P/9273 (2009/2)	P/11967 (2012/3)
<i>I. belli</i>	95.3%	93.5%	99.4%

Het commentaar op de enquête besprak de taxonomie, pathologie, levenscyclus en diagnose van *I. belli*.

De diagnose wordt gesteld door detectie in de stoelgang van de fles- of spoelvormige oöcysten met zeer dunne wand, die 25-33 µm lang en 12-16 µm breed zijn en die 1-2 sporoblasten met een korrelige inhoud bevatten. Grote hoeveelheden oöcysten worden niet gauw gemist. Om kleinere aantallen oöcysten met voldoende hoge gevoeligheid op te sporen kan een concentratietechniek volgens Ridley, hoewel niet ideaal, nuttig zijn. Men kan gebruik maken van een gemodificeerde zuurvaste kleuring of van de eigenschap van de oöcysten om te autofluoresceren. **De infectie mag niet uitgesloten worden op basis van onderzoek van één enkel stoelgangstaal.**

2.4. Gebruik van de Toolkit

Het aantal antwoorden via geïnfomatiseerde weg (Toolkit) bedroeg respectievelijk 76.7%, 62.4% en 63.2% 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,...

III. INFECTIEUZE SEROLOGIE

In 2012 werden serologische parameters voor syfilis, Toxoplasma, Rubella, hepatitis A virus, *Mycoplasma pneumoniae* en HIV geëvalueerd. Er werden eveneens 3 stalen verstuurd voor de detectie van het Rotavirus-Ag. Het aantal deelnemers varieerde afhankelijk van de geëvalueerde parameter.

3.1. Syfilis

Er waren 2 gelyofiliseerde plasmamonsters, IS/7730 en S/8685 waarop antistoffen tegen *T. pallidum* bepaald dienden te worden.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

Stalen IS/7730 en S/8685

“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/8685) consulteert voor een veralgemeende huiduitslag en vermeldt dat hij drie weken eerder een ulcus op de genitaliën had dat spontaan is genezen. De tweede patiënt (met staal IS/7730) komt voor een check-up en heeft geen klachten.”

De verwachte interpretaties waren:

IS/7730: Interpretatie: Geen antilichamen detecteerbaar.

S/8685: Interpretatie: Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie.

Ter gelegenheid van deze enquête bestond voor de 1^e maal de mogelijkheid om via Toolkit te antwoorden: 87.2% van de laboratoria hebben op deze wijze geantwoord.

156 laboratoria namen deel aan deze enquête.

Op staal IS/7730 voerden de 156 labo's 306 testen uit, met name 183 treponemale testen en 123 niet-treponemale testen.

30 laboratoria voerden 1 test uit, 105 laboratoria voerden 2 testen uit, 18 laboratoria 3 testen en 3 laboratoria 4 testen.

Op staal S/8685 voerden ze 354 testen uit, met name 213 treponemale testen en 141 niet-treponemale testen.

12 laboratoria voerden 1 test uit, 104 laboratoria voerden 2 testen uit, 28 laboratoria 3 testen, 10 laboratoria 4 testen en 2 laboratoria 5 testen.

Respectievelijk 90% (IS/7730) en 75 % (S/8685) van de laboratoria die 1 test uitvoerden, gebruikten een treponemale test. Respectievelijk 95% (IS/7730) en 96 % (S/8685) van de laboratoria die meer dan 1 test uitvoerden, gebruikten de combinatie van niet-treponemale en treponemale testen.

De meeste gebruikte kits waren Serodia TPPA (Fujirebio) (38.5% en 44.2%), Architect Syphilis TP (Abbott) (22.4% beide stalen), Liaison Treponema Screen (DiaSorin) (19.9% en 19.2%), Murex Syfacard-R (DiaSorin) (15.3% en 17.9%), RPR-nosticon II (bioMérieux) (15.3% en 17.9%) en RPR Carbon (Spinreact) (14.7% en 17.3%). (% uitgedrukt in functie van aantal deelnemende laboratoria).

Voor staal IS/7730 bekwamen alle laboratoria een negatief resultaat zowel voor de voor de niet-treponemale als voor de treponemale testen.

Alle laboratoria gaven de interpretatie “Geen antilichamen detecteerbaar”.

Voor staal S/8685 bekwamen voor de niet-treponemale testen 97.9% van de laboratoria een positief resultaat, 0.7% een negatief en 1.4% een borderline.

Voor de treponemale testen bekwamen voor de “totale” antistoffen en de IgG alle laboratoria een positief resultaat. Voor de IgM bepaalden bekwamen vier laboratoria een negatief resultaat, twee een borderline en één een positief resultaat.

De meeste laboratoria (94.2%) kozen voor de interpretatie “Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie”. Eén laboratorium verkoos “Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een niet-actieve infectie”. 5.1% van de laboratoria verklaarden dat bijkomende testen en/of een follow-up staal nodig zijn om het onderscheid tussen actieve of niet-actieve infectie te kunnen maken.

In het commentaar werd een opmerking gegeven omtrent het gebruik van syfilis-serologie testen in het kader van screening. Er zijn een beperkt aantal laboratoria die als eerste en/of enige test een niet-treponemale test gebruiken. Deze testen worden inderdaad vrij snel na het oplopen van de infectie positief (relatief hoge gevoeligheid), geven in verschillende fysiologische condities (zwangerschap, hepatitis, acute virale infecties, auto-immun- en bindweefselaandoeningen,...) vals-positieve reacties (beperkte specificiteit) maar zullen in geval van een late (tertiaire) of latente syfilis in de meerderheid van patiënten reeds genegativeerd zijn. Additioneel is de gevoeligheid in vroeg primaire syfilis minder hoog dan deze van de nieuwe treponemale screeningstesten. **Dus in het kader van een algemene screening of oppuntstelling bij een patiënt met vage klachten is het veiliger een treponemale test te gebruiken.**

De nieuwe screeningstesten die antitreponemale IgM en IgG antilichamen op een gevoelige en specifieke wijze detecteren, gebruiken wild-type of recombinante *T. pallidum* antigenen. Ondanks de hoge performantie, hebben ze een aantal beperkingen eigen aan treponemale testen: deze testen zijn niet in staat het onderscheid te maken tussen recente of behandelde versus onbehandelde infecties. Het nut van een semi-kwantitatieve non-treponemale test nadat een positieve screeningstest werd bekomen, is (1) om de exacte ziektestatus en de geschiedenis van de behandeling juist in te schatten, en (2) om de bevindingen van de screeningstest te ondersteunen. Ondanks het feit dat non-treponemale testen een betrouwbare performantie hebben aangetoond gedurende tientallen jaren, zijn de hoger aangehaalde beperkingen significant, en voldoende om deze testen niet als unieke screeningstest te gebruiken.

Met de toegenomen implementatie van treponemale-specifieke EIAs of CLIAs als eerstelijns syfilis screeningstesten in klinische laboratoria, gaan gezondheidswerkers onvermijdelijk geconfronteerd worden met patiënten met een positief resultaat in de treponemale-specifieke screening, maar een negatief resultaat in de niet-treponemale test. Zulke discordantie is op regelmatige basis te verwachten, en kan de bron zijn van verwarring bij gezondheidswerkers en patiënten. Deze combinatie kan overeenkomen met een vals-positieve screening, maar kan natuurlijk ook opduiken in patiënten met doorgemaakte of recent-behandelde syfilis en in patiënten met erg vroege of late en/of latente ziekte.

Het commentaar merkte eveneens op dat een aantal laboratoria wel heel ver doorverdunnen. Het klinisch nut van deze hoge titers is voor discussie vatbaar, maar lijkt eerder beperkt. Mogelijk gebeurde het in dit geval omdat het hier een EKE betreft.

Het commentaar ging eveneens dieper in op de bepaling van de **IgM antistoffen**. De betekenis van het aantonen van *Treponema*-specifieke IgM antistoffen voor de syfilisdiagnostiek berust op de volgende waarnemingen:

1) IgM-antistoffen zijn niet in staat een intacte placentabarrière te passeren. De IgM-diagnostiek is daarom van grote betekenis bij het vaststellen van congenitale syfilis bij neonaten.

2) Anti-treponemale IgM-antistoffen zijn na infectie het eerst aantoonbaar, en ze verdwijnen na behandeling eerder dan de overige antistoffen die van diagnostisch belang zijn. De IgM-antistoffen kunnen opnieuw verschijnen bij reïnfectie. In theorie is daarom het aantonen van deze IgM-antistoffen bruikbaar bij klinisch vermoeden van een reïnfectie, maar in de praktijk blijken de IgM-antistoffen toch niet altijd en geheel te verdwijnen na therapie/genezing, en vervalt dus deze indicatie.

Eventueel kan deze test uitgevoerd worden bij **een hoge seroresistentie** (het continu positief blijven van de VDRL-test in een titer > 1/8 na behandeling van vroege syfilis), met het doel na te gaan of er nog sprake is van een actief, behandelingsbehoevend ziekteproces. **Daarnaast is de enige indicatie voor de IgM-bepaling een verdenking op congenitale syfilis.**

Tenslotte werden de **indicaties voor lumbaalpunctie** (CDC-2010 STD Treatment Guidelines) vermeld:

- § Neurologische of oculaire/auditieve symptomen
- § Therapiefalen
- § Late latente syfilis en serum non-treponomale titer $\geq 1/32$,
- § Andere evidentie van actieve syfilis (aortitis, gummata, iritis)
- § Geen penicilline behandeling mogelijk
- § Positieve HIV test en non treponomale titer $\geq 1/32$, onafhankelijk van het ziektestadium, en zeker obligatoir indien CD4-telling < 350/ μ L
- § Congenitale syfilis

3.2. Toxoplasma

Er waren 2 gelyofiliseerde plasmamonsters, S/6630 en IS/10550 waarop antistoffen tegen Toxoplasma bepaald dienden te worden.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

S/6630: "Afname tijdens het eerste trimester van een zwangerschap"

IS/10550: "Afname tijdens het eerste trimester van een zwangerschap"

De verwachte resultaten waren:

S/6630: IgG positief

IgM negatief

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

IS/10550: IgG negatief

IgM negatief

Interpretatie: Afwezigheid van specifieke antistoffen

Laboratoria met even en oneven erkenningsnummer kregen een verschillend staal doch met dezelfde kenmerken; er werd dus geen enkel verschil in benadering of resultaat tussen beide groepen verwacht.

Ter gelegenheid van deze enquête bestond voor de 1^e maal de mogelijkheid om via Toolkit te antwoorden: 86% van de laboratoria hebben op deze wijze geantwoord.

157 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 345 testen uit op staal S/6630 en 324 testen op staal IS/10550.

Op staal S/6630 voerden 132 laboratoria 2 testen uit, 20 laboratoria 3 testen, 4 laboratoria 4 testen en 1 laboratorium 5 testen.

Op staal IS/10550 voerden 149 laboratoria 2 testen uit, 6 laboratoria 3 testen en 2 laboratoria 4 testen.

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

Tabel 3.2.1. Aantal deelnemers verdeeld per uitgevoerde parameters voor Toxoplasma (enquête 2012/1)

Aantal testen	Type test	S/6630	IS/10550
2 testen	IgG + IgM	132	149
3 testen	IgG + IgM + IgA	1	1
	IgG + IgM + totale As	1	1
	IgG + IgG + IgM	1	1
	IgG + IgM + IgM	1	3
	IgG + IgM + aviditeit	16	-
4 testen	IgG + IgG + IgM + IgM	1	2
	IgA + IgG + IgM + aviditeit	1	-
	IgG + IgM + IgM + aviditeit	2	-
5 testen	IgG + IgG + IgM + IgM + aviditeit	1	-
Totaal		157	157

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- IgG: Architect Toxo IgG (Abbott) (25.6% en 26.3%), Liaison Toxo IgG (DiaSorin) (15.0%, beide stalen), VIDAS Toxo IgG II (bioMérieux) (9.4%, beide stalen) en Cobas Toxo IgG (Roche) (9.4%, beide stalen)

- IgM: Architect Toxo IgM (Abbott) (24.7% en 25.3%), Liaison Toxo IgM (DiaSorin) (14.8%, beide stalen), VIDAS Toxo IgM (bioMérieux) (11.1%, beide stalen) en Cobas Toxo IgM (Roche) (9.3%, beide stalen)
- IgG aviditeit (staal S/6630): VIDAS Toxo IgG avidity (bioMérieux) (55%)

Voor staal S/6630 bekwamen 99.4% van de laboratoria een positief resultaat voor de IgG. Eén laboratorium bekwam een negatief resultaat (staalverwisseling). Het laboratorium dat de totale As bepaalde bekwam een positief resultaat. Beide laboratoria die de IgA bepaalden, vonden deze negatief. Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de IgM. 90% van de laboratoria bekwamen een hoge aviditeit. Twee laboratoria bekwamen eveneens een waarde die als “hoog” beschouwd kan worden, doch interpreteerden dit resultaat foutief als “laag”.

150 (95.5%) gaven voor S/6630 de correcte interpretatie “Aanwezigheid van antistoffen suggestief voor een oud contact (beschermende antilichamen)”. Vier (2.5%) laboratoria vermeldden de noodzaak aan bijkomende testen en/of een follow-up staal. Twee laboratoria verkozen “Serologisch patroon suggestief voor een recente infectie” en één laboratorium “Afwezigheid van specifieke antistoffen”. Deze 3 laatste interpretaties dienen als foutief beschouwd te worden.

Voor staal IS/10550 bekwamen 98.1% van de laboratoria een negatief resultaat voor de IgG. Eén laboratorium bekwam een borderline resultaat en twee een positief (waarvan één t.g.v. staalverwisseling). Het laboratorium dat de totale As bepaalde bekwam een negatief resultaat. Het laboratorium dat de IgA bepaalde, vond deze negatief. Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de IgM.

151 (96.2%) gaven de correcte interpretatie “Afwezigheid van specifieke antistoffen” voor staal IS/10550; twee laboratoria gaven een variant hierop. Eén laboratorium verkoos “Serologisch patroon kan een recente infectie niet uitsluiten of bevestigen; te confirmeren met een follow-up staal”. Eén laboratorium (met het borderline IgG resultaat) vermeldde “Vermoedelijk aspecifieke reactie. Eventueel aan te vullen door bepaling van Toxoplasma IgA en een controlestaal na 2 tot 3 weken”. De twee laboratoria met positieve IgG antwoordden “Aanwezigheid van antistoffen suggestief voor een oud contact (beschermende antilichamen)”. Deze 2 laatste interpretaties dienen als foutief beschouwd te worden.

Het commentaar op de enquête vermeldde dat het **serologisch profiel van staal S/6630 in regel geen verdere follow up meer vereist**, maar dat een aantal laboratoria toch aangaven dat ze graag een follow up staal zouden krijgen. Alhoewel er bij een recente infectie in zeer zeldzame gevallen geen IgM wordt gedetecteerd, is het vragen van een follow up staal bij patiënten met dergelijk serologisch profiel met de bedoeling een titerstijging in IgG uit te sluiten, een vorm van extreme voorzichtigheid die niet nodig is.

Opvallend was de grote variatie die we vonden in IgG titers tussen de verschillende producenten en eveneens tussen de verschillende laboratoria die dezelfde kits gebruiken. **Een vaststelling die ons noodzaakt erop te wijzen dat we titers in opeenvolgende stalen van dezelfde patiënt enkel mogen vergelijken als ze in dezelfde run worden getest.**

Voor de interpretatie van staal IS/10550 waren er ook enkele labo's die een andere interpretatie gaven (bv “afwezigheid van specifieke antistoffen. In geval van vermoeden van een acute infectie, is een controlestaal binnen twee weken aangewezen.”) die niet als foutief mogen beschouwd worden.

Het volgende antwoord kan niet volledig correct worden beschouwd: “vermoedelijk specifieke reactie, eventueel aan te vullen door bepaling van Toxoplasma IgA en een controlestaal na 2 tot 3 weken”. Dit antwoord werd gegeven door het labo dat een borderline positieve IgG vond. Een IgA analyse zal hier niets bijbrengen gezien IgA in regel na de IgM verschijnt en we hier een negatieve IgM hadden. Het vermoeden uitte van een specifieke reactie is eveneens wat voorbarig, hier zouden bijkomende IgG testen met andere technieken kunnen worden aangeraden eventueel gecombineerd met een follow up staal.

3.3. HAV

Er werden 2 stalen rondgestuurd voor de bepaling van antistoffen tegen het hepatitis A virus: S/5627 en IS/6625.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

S/5627: Patiënt met leverstoornissen en geelzucht

IS/6625: Een oudere man biedt zich aan op de consultatie voor reisgeneeskunde vóór hij op reis vertrekt naar de tropen. De arts vraagt de bepaling van anti-HAV IgG aan.

De verwachte resultaten en interpretaties waren:

S/5627:

IgG: positief

IgM: negatief

Interpretatie: Immuniteit (code 2)

IS/6625:

IgG: negatief

IgM: negatief

Interpretatie: Geen immuniteit (code 1)

155 klinische laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug; op staal S/5627 voerden de 155 laboratoria 296 testen uit; op staal IS/6625 voerden 153 laboratoria 287 testen uit (twee van de laboratoria die enkel over kits ter bepaling van de IgM AS beschikken, voerden, gezien de klinische vraagstelling, geen bepaling uit op dit staal).

Op staal S/5627 voerden 15 laboratoria 1 test uit, 139 laboratoria 2 testen en 1 laboratorium 3 testen.

Op staal IS/6625 voerden 20 laboratoria 1 test uit, 132 laboratoria 2 testen en 1 laboratorium 3 testen.

Een overzicht van het aantal en type bepalingen per laboratorium wordt in tabel 3.3.1 weergegeven.

Tabel 3.3.1. Verdeling van de uitgevoerde testen per laboratorium voor HAV (2012/2).

Aantal testen	Type test	S/5627	IS/6625
1 test	Totale As	1	5
	IgG	-	3
	IgM	14	12
2 testen	Totale As + IgM	102	98
	IgG + IgM	37	34
3 testen	Totale As + 2 IgM	1	1
Totaal		155	153

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.: Cobas anti-HAV (Roche) (21.2% beide stalen), VIDAS anti-HAV Total (bioMérieux) (13.5% beide stalen), Modular anti-HAV (Roche) (11.5% beide stalen) en Liaison anti-HAV (Diasorin) (9.6% beide stalen)
- IgM: Architect HAV IgM (Abbott) (25.2% en 24.7%), Cobas anti-HAV IgM (Roche) (15.5% en 15.1%) en VIDAS HAV IgM (bioMérieux) (12.9% en 12.3%)

Voor staal S/5627 vonden alle laboratoria die de totale antistoffen bepaalden deze positief.

De IgG werden door 36 (97.3%) laboratoria positief bevonden. Eén laboratorium bekwam een negatief resultaat (wellicht betreft het hier een verkeerd aanduiden van de keuze bij het invullen van de website: dit laboratorium vermeldde immers een index van 11.2).

Alle laboratoria die de IgM bepaalden, vonden deze negatief.

88.4% van de laboratoria gaven de correcte interpretatie "Immunitet". Eén laboratorium antwoordde "Geen immunitet" en 2 laboratoria "Serologisch profiel suggestief voor een recente/aanwezige infectie met het hepatitis A virus". Eén laboratorium gaf een eigen interpretatie. Elf van de laboratoria die enkel de IgM bepaalden, vermeldden dat er geen recente/acute infectie met het Hepatitis A virus aanwezig is; de drie overige verkozen zich niet uit te spreken.

Voor staal S/6625 vonden alle laboratoria die de IgG bepaalden deze negatief.

De totale antistoffen werden door 103 (99.0%) laboratoria negatief bevonden. Eén laboratorium bekwam een positief resultaat.

Alle laboratoria die de IgM bepaalden, vonden deze negatief.

90.2% van de laboratoria gaven de correcte interpretatie "Geen immunitet". Eén laboratorium antwoordde «Immunitet», 1 laboratorium "Geen immunitet en geen recente infectie" en één laboratorium gaf geen interpretatie.

Zes van de laboratoria die enkel de IgM bepaalden, vermeldden dat er geen recente/acute infectie met het Hepatitis A virus aanwezig is; de zes anderen onder hen vermeldden dat ze geen uitspraak konden doen over immunitet.

Het commentaar op de enquête benadrukte dat het **niet correct** is het **serologisch profiel "IgM negatief, IgG positief" te interpreteren als 'serologisch profiel suggestief voor een recente/aanwezige infectie met het hepatitis A virus'** en dat dit kan leiden tot foutieve conclusies indien de aanvragende arts de foutieve interpretatie niet opmerkt.

Bevestiging van de voor staal S/5627 bekomen resultaten door complementaire testen of een nieuwe afname is niet nodig. Ook in geval van een negatief hepatitis A IgM en IgG resultaat bij een symptomatische patiënt is opvolgserologie niet aangewezen aangezien hepatitis A IgM antistoffen meestal verschijnen voor het begin van de symptomen.

Voor staal S/6625 biedt de interpretatie **"geen recente/acute infectie met het hepatitis A virus" gegeven door 5 laboratoria die enkel hepatitis A IgM bepalen geen antwoord op de klinische vraagstelling**. In deze setting is de conclusie **'geen interpretatie mogelijk met betrekking tot immunitet'** correcter. Een bevestiging door een nieuwe afname is niet aangewezen ook niet na vaccinatie (dit kan wel nuttig zijn na vaccinatie tegen hepatitis B). Hepatitis A vaccins zijn zeer immunogeen en geven nagenoeg 100% seroconversie. Enkel bij personen met verminderde immunitet is het wel aangewezen om de antistofaanmaak na hepatitis A vaccinatie aan te tonen door een serologische test.

3.4. Rubella

Er werden 2 stalen rondgestuurd: IS/8597 en IS/9596.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

IS/8697: Een jonge dame van buitenlandse afkomst, die niet gevaccineerd werd in haar jeugd, meldt zich bij de arts met rash en koorts.

IS/9596: Een jonge vrouw biedt zich aan bij haar huisarts voor een pre-zwangerschapsonderzoek. Zij kan zich niet meer herinneren of zij als kind gevaccineerd werd voor Rubella. De arts neemt een bloedstaal af ter controle van de antistoffen.

De verwachte resultaten waren:

IS/8697: IgG: positief
IgM: negatief
Interpretatie: Immuniteit (code 02)

IS/9596: IgG: positief
IgM: negatief
Interpretatie: Immuniteit (code 02)

149 klinische laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug: al deze labo's voerden testen uit op staal IS/8697; op staal IS/9596 voerden 148 laboratoria testen uit.

Op staal IS/8697 voerden 12 laboratoria 1 test uit, 133 laboratoria 2 testen, 3 laboratoria 3 testen en 1 laboratorium 4 testen.

Op staal IS/9596 voerden 14 laboratoria 1 test uit, 130 laboratoria 2 testen, 3 laboratoria 3 testen en 1 laboratorium 4 testen.

Onderstaande tabel geeft de uitgevoerde parameters per laboratorium weer

Tabel 3.4.1. Aantal deelnemers verdeeld per uitgevoerde parameters

Aantal testen	Type test	IS/8697	IS/9695
1 test	Totale As	1	1
	IgG	11	13
2 testen	IgG + IgM	133	130
3 testen	IgG + 2 IgM	3	3
4 testen	2 IgG + 2 IgM	1	1
Totaal		149	148

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

-IgG: Architect Rubella IgG (Abbott) (24.8% en 24.3%), Liaison Rubella IgG (DiaSorin) (16.1% en 16.2%), VIDAS Rub IgG II (bioMérieux) (12.1% en 12.2%) en Cobas Rubella IgG (Abbott) (10.7% en 10.8%)

-IgM: Architect Rubella IgM (Abbott) (25.5% en 25.4%), Liaison Rubella IgM (DiaSorin) (17.0% en 17.4%) en VIDAS Rub IgM (bioMérieux) (14.2% en 13.0%)

Voor IS/8697 bekwamen alle laboratoria een positief resultaat voor de IgG. Het labo dat de totale AS bepaalde bekwam eveneens een positief resultaat.

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de IgM.

133 (89.3%) gaven de correcte interpretatie "Immunitet" of een variant. Enkele laboratoria verkozen een andere optie.

Het laboratorium dat enkel de totale antistoffen bepaalde en vier van de laboratoria die enkel de IgG bepaalden, opteerden voor "Mogelijkheid van een recente infectie" (code 3); één laboratorium dat enkel IgG bepaalde liet de keuze open tussen "Immunitet" en "Mogelijkheid van een recente infectie"; de overige labo's die enkel IgG bepaalden, verkozen zich niet uit te spreken. Eén laboratorium verkoos geen interpretatie te geven.

Voor IS/9596 bekwamen alle laboratoria een positief resultaat voor de IgG. Het labo dat de totale AS bepaalde bekwam eveneens een positief resultaat. Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de IgM.

142 (95.9%) gaven de correcte interpretatie "Immunitet" of een variant. Enkele laboratoria verkozen een andere optie.

Eén laboratorium dat enkel IgG bepaalde liet de keuze open tussen "Immunitet" en "Mogelijkheid van een recente infectie"; drie laboratoria die enkel IgG bepaalden, verkozen zich niet uit te spreken. Het laboratorium dat enkel de totale antistoffen bepaalde en de overige laboratoria die enkel IgG bepaalden, kozen voor "Immunitet". Eén laboratorium verkoos geen interpretatie te geven.

Het commentaar op de enquête vermeldde dat hoewel de aanwezigheid van IgM niet noodzakelijk gelinkt is aan een recente infectie (persisterende IgM, vaccinatie, polyclonale activatie,...), de **afwezigheid van IgM daarentegen redelijkerwijze de diagnose uitsluit**. Voor staal IS/9596 benadrukte het commentaar dat de interpretatie « Immunitet » correct is, ook voor de laboratoria, die enkel de IgG of totale antistoffen bepaald hebben gezien er geen enkel symptoom was dat op Rubella wijst noch een vermoeden van contact.

Het commentaar herhaalde eveneens dat deze resultaten duidelijk aantonen dat de kwantitatieve resultaten van verschillende laboratoria niet met elkaar vergeleken kunnen worden, ondanks het gebruik van internationale eenheden.

3.5. Rotavirus antigen

Er werden 3 stalen (Ag/11734, Ag/11735 en Ag/11736) rondgestuurd waarop de bepaling van het Rotavirus-antigen gevraagd werd. Stalen Ag/11734 (stam G1P[4]) en Ag/11736 (stam G2P[8]) waren positief en staal Ag/11735 negatief.

In het totaal stuurden 146 laboratoria hun antwoordformulier terug.

Op stalen Ag/11734 en Ag/11736 voerden 141 laboratoria 1 test uit en 5 laboratoria 2 testen (in totaal dus telkens 151 testen). Op staal Ag/11735 voerden 140 laboratoria 1 test uit en 5 laboratoria 2 testen (in totaal dus 150 testen); één laboratorium antwoordde voor dit staal dat het niet afleesbaar was (staal te dik, waardoor controlestreep niet reageert).

De meest gebruikte kits waren: Rota-strip (Coris Bioconcept) (39.1%, 38.7% en 39.1%), Combi-strip (Coris Bioconcept) (21.9%, 22.0% en 21.9%) en VIKIA Rota-Adenokit (11.3%, 11.3% en 11.3%)

De resultaten kunnen als volgt samengevat worden:

Staal Ag/11734: 144 (98.6%) laboratoria bekwamen steeds een positief resultaat, één laboratorium een negatief resultaat en één laboratorium verschillende resultaten naargelang de gebruikte kits.

Staal Ag/11735: 118 (81.4%) laboratoria bekwamen steeds een negatief resultaat, 16 (11.0%) laboratoria steeds een positief resultaat, 10 (6.9%) laboratoria steeds een borderline resultaat en één laboratorium verschillende resultaten naargelang de gebruikte kits.

Staal Ag/11736: 121 laboratoria (82.9%) bekwamen steeds een positief resultaat, 13 (8.9%) laboratoria steeds een borderline resultaat, 10 (6.8%) laboratoria steeds een negatief resultaat en twee laboratoria verschillende resultaten naargelang de gebruikte kits.

De firma's met kits met meerdere afwijkende resultaten werden gecontacteerd om de stalen te onderzoeken.

De firma Coris kon bij onderzoek de vals negatieve of positieve resultaten niet nabootsen (en dit met verschillende loten). Zij raden aan dergelijke vloeibare stalen steeds goed te mengen voor gebruik en 20 µL staal af te nemen: indien men een geringere staalhoeveelheid gebruikt, bestaat het risico op vals negatieve resultaten. Een mogelijke verklaring voor de vals-positieve resultaten kan zijn: indien de stalen na meer dan 10 minuten afgelezen worden, kan dit een niet-specifieke accumulatie van het conjugaat ter hoogte van de testlijn en een "achtergrondruis" veroorzaken die tot een aflezingsfout kan leiden.

De firma bioMérieux bezorgde ons volgende besluit:

« Welke loten van de Vikia Rota Adeno kits ook getest werden (validatieloten en PV kits, PV ABON kits), wij bekomen steeds een positief resultaat voor staal Ag/11735 van de Belgische ROTA-kwaliteitscontrole.

Er is geen afwijking ten opzichte van interpretatie van het staal Ag/11735 van de Belgische ROTA-kwaliteitscontrole met de Vikia Rota Adeno sinds de eerst geproduceerde loten.

Met de concurrerende kit Diarlex (latex test) lot 140455, werd staal Ag/11735 negatief bevonden voor Rotavirus en Adenovirus.

Met de concurrerende kit Diarlex (test met strips) MB lot 1459996, gaf staal Ag/11735 een niet-interpreteerbaar resultaat.

Met de kit PV Vidas Rotavirus, werd staal Ag/11735 negatief bevonden

De resultaten die bekomen werden met staal Ag/11735 in het Klachtenlaboratorium van Marcy werden doorgegeven aan bioMérieux Shanghai.

Dit dossier is gekoppeld aan onderzoek referentie 554107 dat zal uitgebreid worden naar alle loten.

Voor de R&D verantwoordelijke van BioMérieux Shanghai zijn de vals positieve resultaten te wijten aan het staal en aan het design van de Vikia Rota Adeno kits (ABON of BioMérieux Shanghai).

Als reactie op het antwoord van de R&D verantwoordelijke van BioMérieux Shanghai, werd een onderzoek uitgevoerd van de geregistreerde VIKIA Rota-Adeno klachten voor specificiteitsproblemen op de loten die geproduceerd werden door BioMérieux Shanghai en het resultaat van de specificiteit bedraagt 99.98 %. Dit blijft conform aan de specificaties van de performanties die in de technische bijsluiter opgenomen zijn (deze specificiteit houdt rekening met het aantal geregistreerde klachten en het mogelijk aantal uitgevoerde testen = 11 klachten op 8 verkochte loten, of ongeveer 80 000 testen)

Ten gevolge van deze vaststelling werd besloten:

- om geen CAPA te openen
- om het onderzoek met referentie 554107 af te sluiten
- een maandelijkse opvolging van de klachten uit te voeren
- een bilan van het aantal klachten zal opgesteld worden eind december 2012.

De performantie van het product wordt niet in vraag gesteld. »

3.6. Mycoplasma pneumoniae serologie

Er werden 2 stalen rondgestuurd voor het uitvoeren van de *M. pneumoniae*-serologie.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

IS/7731: Een jonge man raadpleegt zijn arts wegens koorts, keelpijn en een aanslepende droge hoest.

IS/11713: Een jonge vrouw biedt zich aan bij haar huisarts met klachten van algemeen onwelzijn, lichte koorts, hoofdpijn, keelpijn en een aanslepende droge hoest.

S/7731:

Totale AS: negatief
IgG: negatief
IgM: negatief
IgA: negatief
Interpretatie: Afwezigheid van antistoffen

IS/11713:

Totale AS: positief
IgG: positief
IgM: positief
IgA: negatief
Interpretatie: Aanwezigheid van antistoffen, suggestief voor een actieve infectie
Het antwoord "afname van een controle staal om een toename in antistof titer te kunnen aantonen" is ook correct voor laboratoria die enkel totale As. of IgG bepaald hebben.

148 klinische laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 278 testen uit op staal S/7731 en 282 testen op staal IS/11713.

Onderstaande tabel geeft de uitgevoerde parameters per laboratorium weer

Tabel 3.6.1. Aantal deelnemers verdeeld per uitgevoerde parameters

Aantal testen	Type test	S/7731	IS/11713
1 test	Totale As	15	12
	IgM	10	10
2 testen	IgG + IgM	89	88
	Totale As + IgM	25	28
	IgA + IgM	2	2
	2 x Totale AS	1	1
3 testen	IgA + IgG + IgM	3	4
	Totale As + IgA + IgM	1	1
	Totale As + IgG + IgM	1	1
4 testen	2 x IgG + 2 x IgM	1	1
Totaal		148	148

Op staal S/7731 werden dus 44 bepalingen van de totale As uitgevoerd, 95 bepalingen van de IgG, 133 van de IgM en 6 van de IgA.

Op staal IS/11713 werden 44 bepalingen van de totale As uitgevoerd, 95 bepalingen van de IgG, 136 van de IgM en 7 van de IgA.

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- Totale As: Serodia-Myco II (Fujirebio) (95.5%, beide stalen)

- IgG: SeroMP IgG (Savyon Diagnostics) (29.5%, beide stalen), Liaison Mycoplasma pneumoniae IgG (Diasorin) (20.0%, beide stalen) en Chorus Mycoplasma pneumoniae IgG (Dlesse) (10.5%, beide stalen)
- IgM: SeroMP IgM (Savyon Diagnostics) (21.1% en 20.6%), Immunocard Mycoplasma IgM (Meridian) (18.8% en 19.9%), Liaison Mycoplasma pneumoniae IgM (Diasorin) (15.0% en 14.7%) en Chorus Mycoplasma pneumoniae IgM (Dlesse) (9.0% en 8.8%)
- IgA: Mycoplasma pneumoniae IgA Elisa (Medac) (66.7% en 71.4%)

De resultaten kunnen als volgt samengevat worden:

Staal S/7731

42 (97.7%) laboratoria die de totale As bepaalden vonden deze negatief; één labo bekwam verschillende resultaten voor verschillende kits.

92 (97.9%) laboratoria die de IgG bepaalden vonden deze negatief; twee labo's bekwamen een borderline resultaat.

127 (96.9%) laboratoria die de IgM bepaalden vonden deze negatief; vier labo's bekwamen een positief resultaat.

Alle bepalingen van de IgA waren negatief.

92.6% van de laboratoria gaven de interpretatie "Afwezigheid van antistoffen"; twee laboratoria vermeldden "afwezigheid van IgM antistoffen" en twee "staal niet suggestief voor een actieve infectie"; één labo gaf aan dat op basis van enkel IgM een uitspraak onmogelijk was en één labo vermeldde "onbepaald". Drie laboratoria vermeldden de interpretatie "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie" en één labo "Aanwezigheid van residuele IgG". Tenslotte liet één laboratorium de interpretatie open.

Staal IS/11713

42 (97.7%) laboratoria die de totale As bepaalden vonden deze positief; één labo bekwam een negatief resultaat.

77 (81.9%) laboratoria die de IgG bepaalden vonden deze positief; negen (9.6%) labo's bekwamen een borderline resultaat, 7 (7.9%) een negatief en één labo bekwam verschillende resultaten voor verschillende kits.

97 (71.3%) laboratoria die de IgM bepaalden vonden deze positief; 17 (12.5%) labo's bekwamen een borderline resultaat, 20 (14.7%) een negatief en één labo bekwam verschillende resultaten voor verschillende kits.

Zes (85.7%) van de bepalingen van de IgA waren negatief en één was borderline.

75% van de laboratoria gaven de interpretatie "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie" of een variant hierop; 9.5% vermeldden "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een niet-actieve infectie" of een variant hierop; 2.7% van de laboratoria konden geen onderscheid maken tussen een actieve en niet-actieve infectie; 2.7% vermeldden dat een tweede staal nodig was; 2.7% vermeldden "Afwezigheid" van As". De overige 9 laboratoria gaven andere interpretaties.

Het commentaar op de enquête vermeldde dat **negatieve serologische bevindingen op een eenmalige staalname met de nodige voorzichtigheid geïnterpreteerd dienen te worden gezien *M. pneumoniae* infecties bij volwassenen vaak verlopen zonder detecteerbare IgM (52%) en IgG (50%) in het acuut serumstaal afgenomen in de eerste week.** In de loop van de infectie, pieken IgM rond 3^{de} week en IgG rond 5^{de} week met als gevolg dat convalescente sera verbeterde reactiviteit zowel voor IgM (88%) als IgG (82%) vertonen en dienen afgenomen te worden 2-3 weken na de initiële bepaling. Deze samplingstrategie is vooral van belang bij volwassenen ouder dan 40 jaar die mogelijk geen IgM respons kunnen vertonen, hoogst waarschijnlijk als gevolg van re-

infectie. **Volgend standaard commentaar is aan te raden: “in geval van twijfelachtige of negatieve resultaten voor IgG en IgM, is het bij volwassenen > 40 jaar aangewezen een controlestaal binnen 2-3 weken te nemen”.**

Gezien de gekende verschillen in performantie van serologische methoden en bijzonderheden in het serologisch verloop van *M. pneumoniae* infecties, is een nieuwe staalafname de te verkiezen strategie voor de laboratoria die twijfelachtige of negatieve resultaten hebben bekomen. PCR op een respiratoir staal kan eventueel als aanvullend onderzoek aangeraden worden maar dient geïnterpreteerd te worden in combinatie met de serologische resultaten gezien de controversiële bevindingen betreffende de gevoeligheid van PCR versus serologie. Zowel vals negatieve als vals positieve PCR resultaten werden gerapporteerd in de wetenschappelijke literatuur gerelateerd aan de staalsoortafhankelijke performantie van PCR naast detectie van asymptomatisch dragerschap tot 7 maanden postinfectie of vals negativiteit door lage bacteriële ladingen als gevolg van behandeling met antibiotica. Deze combinatie van serologie en PCR betreft de meest betrouwbare benadering voor het opsporen van infecties veroorzaakt door *M. pneumoniae* en is als zodanig opgenomen in internationale richtlijnen.

3.7. HIV

Er werden 2 “klaar-voor-gebruik” stalen (S/5309 en IS/8900) verstuurd voor de bepaling van HIV-antistoffen.

De verwachte resultaten waren:

Staal S/5309 was reactief voor HIV-antistoffen.

Staal IS/8900 was negatief op HIV-antistoffen.

Aan deze enquête namen 165 Belgische en Luxemburgse laboratoria deel.

Op staal S/5309 voerden de laboratoria 185 screeningstesten uit: 145 laboratoria voerden 1 test uit en 20 laboratoria 2 testen. Daarnaast vermelden, 2 deelnemers het resultaat van de Ag p24 test die zij bekwamen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit (bioMérieux), bepaalden 2 laboratoria Ag p24 met de VIDAS HIV p24 II kit en 1 met de Innostest HIV Antigen mAb (Innogenetics); vier laboratoria voerden een confirmatietest uit: drie met de Inno-LIA HIV I/II score (Innogenetics) en één met de HIV-Blot 2.2 (MP Diagnostics).

Op staal IS/8900 voerden de laboratoria 177 screeningstesten uit: 153 laboratoria voerden 1 test uit en 12 laboratoria 2 testen. Daarnaast vermelden 2 deelnemers het resultaat van de Ag p24 test bekomen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit en 2 laboratoria het resultaat van het p24 Ag bekomen met de VIDAS HIV p24 II kit (bioMérieux).

De meest gebruikte reagentia waren Architect HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (26.5% en 27.7%), HIV Combi PT (Roche) (13.5% en 15.8%), VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) (10.3% en 8.5%) en VITROS Immunodiagnostic Products anti HIV 1+2 (Ortho Diagnostics) (7.6% en 7.9%).

Resultaat van de screeningstesten voor S/5309: 164 (99.4%) laboratoria bekwamen een reactief resultaat met de screeningstesten. Eén laboratorium gaf geen antwoord omwille van een technisch probleem.

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

De resultaten van de Ag p24-bepalingen met de andere kits waren allen negatief.

De resultaten van de Inno-LIA HIV I/II score en de HIV-Blot 2.2 waren allen positief.

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat met de screeningstesten voor staal IS/8900.

Alle resultaten van de Ag p24 testen waren negatief.

Het commentaar ging nader in op de antwoorden op de vragen over de diagnostiek bij neonaten. De diversiteit van de antwoorden was nagenoeg even groot als in 2010, toen dezelfde vraag gesteld werd.

Het commentaar was daarom in grote lijnen gelijk aan het commentaar van 2010.

Bij kleine **kinderen van een HIV besmette** moeder zijn er **altijd maternele 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/epidemiologie/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 het **proviraal DNA in witte bloedcellen**. Hiervoor moet **vol bloed op een geschikt anticoagulans 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 (aanbevolen) en 6 (optioneel). Het is belangrijk een positief resultaat te bekomen op twee onafhankelijke stalen vóór men besluit tot besmetting van het kind. De opvolging van een kind dat seronegatief geworden is, gebeurt met klassieke serologie

Antwoord op de vragen:

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. Het enige mogelijke besluit is dat het kind « at risk » is voor een HIV-infectie (seropositieve moeder).

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 provirale 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.

Laten we om te eindigen, benadrukken dat in ons land, waar de behandeling van de zwangeren toelaat hun virale ladingen te verminderen tot onder het detectieniveau, de transmissie van HIV van moeder op kind uiterst zeldzaam geworden is.

EINDE
