

**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

2013

WIV-2013/Micro/Sero/Para/96

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
Enquêtecoördinator: TEL: 02/642.55.29
Dr. VERNELEN K. e-mail: kris.vernelen@wiv-isp.be
Vervanger enquêtecoördinator: TEL: 02/642.53.85
Dr. CHINA B. 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 FAX: /
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. PADALKO 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: 28/08/2014

Toestemming verspreiding rapport: door Kris Vernelen (Enquêtecoördinator) op 17/09/2014



Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

http://www.wiv-isp.be/qml/bckb33/activities/external_quality/rapports/_nl/rapports_annee.htm

Inhoudstafel

MICROBIOLOGIE	4
Verslag van de identificatie van de culturen	4
Verdeling van de resultaten per monster	4
Verdeling van de laboratoria volgens het aantal aanvaardbare identificaties	5
Evaluatie van de gevoeligheidsbepalingen	6
Escherichia coli M/4829.....	6
Staphylococcus aureus M/11687.....	7
Hafnia alvei M/7180.....	9
Streptococcus viridans M/12077.....	11
Aeromonas hydrophila M/4807.....	12
Salmonella Duisburg M/4807	14
PARASITOLOGIE	15
Enquête 1	15
Enquête 2	15
Enquête 3.....	16
Gebruik van de Toolkit.....	17
SEROLOGIE INFECTIEUSE.....	18
Hepatitis B.....	18
Hepatitis C.....	20
Interpretatie van HBV en HCV	21
RSV-Ag.....	23
Borrelia	24
CMV	27
EBV	33
S/4173.....	34
S/11220.....	34
HIV	36

In 2013 werden er 3 enquêtes georganiseerd in het kader van de EKE in de microbiologie. 164 laboratoria namen aan minstens één enquête deel. Drie (1.8 %) namen deel aan 2 enquêtes en 161 (98.2 %) aan 3 enquêtes. Twee laboratoria stopten hun activiteiten. De deelname van de laboratoria bedroeg voor de opeenvolgende enquêtes 164, 163 en 161. Men onderscheidt 108 hospitaallaboratoria, 42 privé laboratoria, 4 laboratoria in poliklinieken en 10 andere laboratoria.

Verslag van de identificatie van de culturen

Verdeling van de resultaten per monster

Er werden 12 stalen verstuurd: 11 onder gevriesdroogde vorm en 1 gesimuleerde stoelgangsstaal.

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

Mycobacterium smegmatis afkomstig uit een abces van een amputatiestomp werd in de 2^e enquête verstuurd met didactische bedoelingen.

Streptococcus viridans (afkomstig uit een hemocultuur; eveneens verstuurd in de 2^e enquête) behoorde tot de mitis/oralis groep (alle antwoorden viridans, mitis en oralis werden dan ook als correct beschouwd).

Voor *Salmonella* Duisburg (stoelgang; enquête 2013/3) werd een identificatie tot op het genusniveau als afdoende beschouwd.

Tabel 1 Verdeling van de resultaten per monster. De oorsprong van elke kiem wordt tussen haakjes vermeld.

Kiem	% aanvaardbare identificaties
<i>Escherichia coli</i> (urine)	100
<i>Candida tropicalis</i> (hemocultuur)	96.3
<i>Staphylococcus aureus</i> (urine)	100
Huidcommensalen (ulcus)	46.0
<i>Hafnia alvei</i> (hemocultuur)	97.5
<i>Streptococcus viridans</i> (hemocultuur)	97.5
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PID)	98.2
<i>Salmonella</i> Duisburg (stoelgang)	93.7
<i>Aeromonas hydrophila</i> (hemocultuur)	87.1
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> (hemocultuur)	65.8
<i>Kingella kingae</i> (gewrichtsvocht)	85.7

Het lage percentage voor het ulcusstaal met de huidcommensalen wordt verklaard door het feit dat de meerderheid van de laboratoria de in dit staal aanwezige *S. epidermidis* toch geantwoord hebben. **We dienen hierbij wel op te merken dat tijdens de vergadering van het expertencomité beslist werd dat het rapporteren van de identificatie niet als foutief beschouwd dient te worden indien er geen antibiogram doorgegeven wordt.**

Het lage percentage voor de *S. dysgalactiae* wordt verklaard door het feit dat deze kiem agglutineerde met de Lancefield groep A en een groot aantal laboratoria derhalve het antwoord *S. pyogenes* verstrekten of zich beperkten tot het antwoord “streptokok van groep A”.

Er werden eveneens twee uitstrijkjes verstuurd voor zuurvaste kleuring (M/11963 (negatief) en M/12129 (positief)).

Het negatieve zuurvaste uitstrijkje werd door 96.2% van de laboratoria correct beantwoord en het positieve door 87.6%

Verdeling van de laboratoria volgens het aantal aanvaardbare identificaties

Elk laboratorium diende 11 identificaties te verwezenlijken. 67 (40.9%) laboratoria hebben alle identificaties correct of aanvaardbaar geantwoord. In het totaal hebben 97 (59.1 %) laboratoria niet aanvaardbare identificaties vermeld. Onderstaande tabel geeft de verdeling van de laboratoria weer volgens het aantal niet aanvaardbare identificaties.

Tabel 2 Aantal niet aanvaardbare identificaties (zonder de "ontbrekende" antwoorden).

Aantal niet aanvaardbare identificaties	Aantal laboratoria (N = 164)
0	67 (40.85%)
1	67 (40.85%)
2	26 (15.85%)
3	4 (2.43%)

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

Aantal niet aanvaardbare identificaties	Aantal laboratoria N = 164)
0	66 (40.2%)
1	67 (40.9%)
2	26 (15.9%)
3	4 (2.4%)
4	1 (0.6%)

Evaluatie van de gevoeligheidsbepalingen

De gevoeligheid van 6 kiemen, *Escherichia coli* M/4829, *Staphylococcus aureus* M/11687, *Hafnia alvei* M/7180, *Streptococcus viridans* M/12077, *Aeromonas hydrophila* M/4788 en *Salmonella* Duisburg M/4807 werden uitgetest elk tegenover een afzonderlijke reeks antibiotica.

Escherichia coli M/4829

Dit was een volledig gevoelige kiem, die de laboratoria dan ook voor geen enkel probleem stelde.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globale rapport 2013/1.

Tabel 1 Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/4829 (*Escherichia coli*)

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Ampicilline	S	159	159	-	-	-
Amoxicilline ¹	S	2	2	-	-	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	S	163	163	-	-	-
Cefuroxime	S	158	158	-	-	-
Ceftazidime	S	156	155	-	-	1 ²
Cefotaxime ³	S	1	1	-	-	-
Piperacilline-tazobactam	S	143	145	-	-	1 ⁴
Gentamicine	S	151	150	-	-	1 ⁵
Amikacine ⁶	S	3	3	-	-	-
Nitrofurantoïne	S	161	161	-	-	-
Chinolone						
Ciprofloxacin	S	125	125	-	-	-
Levofloxacin	S	22	22	-	-	-
Moxifloxacin	S	1	1	-	-	-
Norfloxacin	S	21	21	-	-	-
Ofloxacin	S	3	3	-	-	-
Chinolone ⁷	S	8	8	-	-	-

¹ Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor amoxicilline i.p.v. voor ampicilline.

² Eén laboratorium antwoordde wel de MIC (≤ 1 mg/L) en het ruwe resultaat (S) maar niet het finale resultaat voor ceftazidime.

³ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor cefotaxime i.p.v. voor ceftazidime.

⁴ Eén laboratorium antwoordde wel de MIC (≤ 4 mg/L) en het ruwe resultaat (S) maar niet het finale resultaat voor piperacilline-tazobactam.

⁵ Eén laboratorium antwoordde wel de MIC (≤ 1 mg/L) en het ruwe resultaat (S) maar niet het finale resultaat voor gentamicine.

⁶ Drie laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor amikacine i.p.v. gentamicine.

⁷ Acht laboratoria vermeldden de naam van het gebruikte fluorochinolone niet.

Staphylococcus aureus M/11687

Het bijzondere aan deze kiem was dat hoewel hij drager was van het *mecA* gen, niet alle methoden de oxacilline- en cefoxitineresistentie detecteerden (zoals ook blijkt uit tabel 2). Zestig percent van de laboratoria hebben expliciet de aanwezigheid van een MRSA vermeld

Het commentaar op de enquête omvatte een beschrijving van de **oxacilline-resistentie**: deze **is te wijten aan een verworven « Penicillin Binding Protein », PBP2a**, met een zwakke affiniteit voor beta-lactams. De synthese van het PBP2a wordt gecodeerd door het **mec gen** waarvan drie allotypes (*mecA*, *mecB* en *mecC*) beschreven zijn. Voor de verdere beschrijving van deze resistentie verwijzen we naar het globale rapport 2013/1.

Volgens de testen die uitgevoerd werden door het referentielaboratorium, vertoonde stam M/11687 een hetero-resistentie tegen oxacilline (MIC = 2-4 mg/l). Deze resistentie werd bevestigd door de aanwezigheid van het *mecA* gen, dat via PCR aangetoond werd.

Slechts 130 (79.8%) laboratoria hebben de low level resistentie correct aangetoond en gerapporteerd. 23 laboratoria hebben geantwoord dat de stam gevoelig was (very major error), vier laboratoria bekwamen discordante resultaten met de verschillende technieken die ze gebruikten maar twee onder hen hebben de stam correct als « MRSA » geïnterpreteerd.

De meerderheid (>99%) van de laboratoria correct de resistentie tegen de chinolonen en de gevoeligheid voor gentamicine geantwoord. **Resistentie tegen chinolonen is zeer frequent (> 90%) bij MRSA-stammen**, meer bepaald bij stammen van nosocomiale oorsprong. Bij *S. aureus* die gevoelig zijn aan methicilline (**MSSA**) is de **resistentie tegen chinolonen** daarentegen **zeldzaam** ($\pm 5\%$). **MRSA stammen die resistent zijn tegen gentamicine zijn zeldzaam** geworden in België (<1%). Resistentie tegen gentamicine leidt bij *S. aureus* tot een co-resistentie tegen alle aminoglycosiden.

Enkele laboratoria (n = 2) hebben resistentie tegen vancomycine gerapporteerd (major error). De **resistentie tegen glycopeptiden** en meer bepaald tegen vancomycine is **uitzonderlijk** (<1%) en moet **bevestigd worden door een referentielaboratorium**.

De **detectie van stammen met een low level resistentie of van heterogene stammen** is vaak moeilijk. De verschillende Europese en Amerikaanse verenigingen voor microbiologie bevelen het **gebruik van cefoxitine** aan wegens zijn uitstekende gevoeligheid en specificiteit voor de bepaling van de gevoeligheid voor oxacilline. Indien echter een atypisch resistentieprofiel of tegenstrijdige fenotypische resultaten bekomen worden, is het aangewezen om de aanwezigheid van het PBP2a (door agglutinatie of door immunochromatografie) of het *mec* gen via PCR op te sporen.

De stammen waarvan de resistentie gecodeerd wordt door het *mecC* gen vertonen gewoonlijk een low level resistentie tegen cefoxitine en oxacilline. De klassieke PCR testen met het *mecA* als target zijn negatief maar de aanwezigheid van het PBP2a kan toch vastgesteld worden na inductie met een cefoxitine-schijfje. Met uitzondering van de beta-lactams, vertonen de *mecC* stammen geen co-resistentie tegen andere antibiotica-klassen in tegenstelling tot de *mecA*-MRSA. De stammen die drager zijn van het *mecC* gen worden zelden geïsoleerd in België (<1%).

De bevestiging en de typering kunnen uitgevoerd worden door het referentielaboratorium Stafylokokken – MRSA die de microbiologische surveillance van deze infecties in België uitvoert.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globale rapport 2013/1.

Tabel 2 Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/11283 (*Streptococcus pneumoniae*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Penicilline	R	157	7	1	143	-
Ampicilline ¹	R	1	-	-	1	-
Oxacilline	R	144	14	-	130	-
Cefoxitine	R	139	14	-	125	-
Gentamicine	S	151	147	-	3	1 ²
Amikacine ³	S	3	3	-	-	-
Vancomycine	S	157	154 ⁴	-	1	2 ⁵
Nitrofurantoïne	S	129	125	2	1	1 ⁶
Chinolone						
Ciprofloxacin	R	54	-	-	54	-
Levofloxacin	R	92	-	-	92	-
Moxifloxacin	R	21	-	2	19	-
Norfloxacin	R	5	-	-	5	-
Ofloxacin	R	8	-	-	8	-
Chinolone ⁷	R	4	-	-	4	-

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

² Eén laboratorium antwoordde wel de MIC (≤ 1 mg/L) en het ruwe resultaat (S) maar niet het finale resultaat voor gentamicine.

³ Drie laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor amikacine i.p.v. gentamicine.

⁴ Eén laboratorium voorzag zijn antwoord "S" voor vancomycine van de opmerking: "Vancomycine wordt gerapporteerd met een commentaar dat enkel hoog niveau resistentie gedetecteerd wordt, indien gewenst MIC-bepaling."

⁵ Eén laboratorium gaf de opmerking: "Voor vancomycine 30 μ g, moet een zone ≥ 7 mm geconfirmeerd worden met een MIC-bepaling (die wij niet uitvoeren)." Een ander laboratorium gaf als finaal antwoord "MIC 1".

⁶ Eén laboratorium antwoordde wel de diameter (15 mm) maar vermeldde dat nitrofurantoïne voor *S. aureus* niet gerapporteerd wordt in routine bij gebrek aan breekpunten EUCAST 2013.

⁷ Vier laboratoria vermeldden de naam van het gebruikte fluorochinolone niet.

Hafnia alvei M/7180

Deze stam die verstuurd werd in de enquête, vertoonde het typische resistentieprofiel van de induceerbare low level cefalosporinase. Voor een beschrijving van de verschillende mogelijke resistentiepatronen bij *Hafnia alvei* verwijzen wij naar het globaal rapport van deze enquête.

De overgrote meerderheid van de laboratoria heeft (met schijfjes en met de geautomatiseerde technieken) op correcte wijze zowel de resistentie tegen ampicilline en amoxicilline-clavulaanzuur als de gevoeligheid voor cefalosporines van de 3e generatie vastgesteld.

De afwezigheid van EUCAST-normen voor cefuroxime voor *Hafnia alvei* noopt ons ertoe geen resultaat weer te geven voor de gevoeligheid voor dit antibioticum.

Intermediaire gevoeligheid of resistentie tegen piperacilline-tazobactam werden foutief geantwoord door respectievelijk 25/155 en 14/155 laboratoria. 35 van de 39 resultaten werden bekomen met de Vitek. De firma bioMérieux heeft de stam onderzocht. U vindt hieronder de conclusie van hun onderzoek

“ Investigation Answer:

We duplicated the non-reproducible results obtained by different Belgium laboratories. In-house we obtained TZP MIC (16-32-64mg/L) with the 3 different VITEK 2 cards.

The results obtained with AST-N236 card (TZP MIC= 16 mg/L) and AST-N265 card TZP MIC= 32 mg/L) were correlated to the reference MIC (TZP MIC= 16 mg/L, BMD) within one doubling dilution for AST-N265.

We observed a difference of 2 doubling dilutions with the AST-N237 card in comparison with the reference MIC.

In function of the standards used (EUCAST or CLSI), we can effectively have discrepancies:

*With AST-N236 card: I /EUCAST which leads to a minor error or S/CLSI but no category error

* with AST-N237 and AST-N265 cards : R/ EUCAST and I/CLSI which leads to a minor error

We also observed the strain reacts differently according to the medium used (liquid/solid), and thus lead to a discrepancy between reference MICs (BMD/AD).

The reference method used by the Belgium authorities to determine the TZP MIC was not known.

Data and organism will be forwarded to R&D. “

Onderstaande tabel met de resultaten van de enquête werd gepubliceerd in het globaal rapport 2013/2.

Tabel 3. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/7180 (*Hafnia alvei*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	S/I	I	R	*
Ampicilline	R	158	3	-	3	152	-
Amoxicilline ¹	R	2	-	-	-	2	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	R	162	1	-	-	161	-
Cefuroxime		154	125	1 ²	3	20 ³	5 ⁴
Cefotaxime	S	133	125	-	4	2	2 ⁵
Ceftriaxone	S	52	50	-	-	1	1 ⁶
Ceftazidime ⁷		6	4	-	1	1	-
Cefepime ⁸		1	1	-	-	-	-
Piperacilline-tazobactam	S	155	116	-	25	14	-
Meropenem	S	154	153	-	-	-	1 ⁹
Imipenem ¹⁰	S	1	1	-	-	-	-
Amikacine	S	141	141	-	-	-	-
Gentamicine ¹¹	S	5	5	-	-	-	-

¹ Twee laboratoria hebben de gevoeligheid voor amoxicilline i.p.v. voor ampicilline getest.

- ² Eén laboratorium vermeldde "S indien IV, I indien peroraal".
- ³ Twee laboratoria voorzagen het antwoord "R" van een opmerking
- Klinisch niet bruikbaar: niet aan te raden
 - Geen EUCAST breakpoints voor cefuroxime en *Hafnia alvei*: standaard wordt "R" gerapporteerd.
- ⁴ Vijf laboratoria vermeldden wel de diameter of MIC-waarde maar lieten de interpretatie open. Drie van deze laboratoria vermeldden expliciet dat er geen breakpoints bestaan voor *Hafnia alvei*.
- ⁵ Twee laboratoria vermeldden wel de diameter of MIC-waarde maar lieten de interpretatie open. Ze gaven volgende opmerkingen:
- gemaskeerd resultaat: geen interpretatie
 - geen breakpoints voor *Hafnia alvei*.
- ⁶ Eén laboratorium vermeldde wel de diameter maar liet de interpretatie open
- ⁷ Zes laboratoria hebben de gevoeligheid voor ceftazidime i.p.v. voor één of meerdere van de voorgestelde cefalosporines getest.
- ⁸ Eén laboratorium heeft de gevoeligheid voor cefepime i.p.v. voor ceftriaxone getest.
- ⁹ Eén laboratorium vermeldde wel de MIC-waarde maar liet de interpretatie open
- ¹⁰ Eén laboratorium heeft de gevoeligheid voor imipenem bepaald i.p.v. voor meropenem
- ¹¹ Vijf laboratoria hebben de gevoeligheid voor gentamicine i.p.v. voor amikacine getest.

Streptococcus viridans M/12077

Deze kiem werd gekenmerkt door resistentie tegen de penicillines, cefalosporines en macroliden. Het aantonen van deze resistenties bleek echter niet steeds even evident voor de laboratoria.

Het commentaar op de enquête gaf een duidelijke beschrijving van de evolutie in taxonomie en identificatie van streptokokken.

Het vermeldde eveneens dat **resistentie tegen beta-lactam antibiotica bij *Streptococcus viridans*** wordt veroorzaakt door **wijziging van de “Penicillin Binding Proteins” (PBP’s)**. Afhankelijk van de soort wijziging van de PBP’s kan dit leiden tot resistentie tegen verschillende soorten beta-lactam antibiotica. Resistentiekenmerken kunnen worden uitgewisseld tussen *Streptococcus viridans* en pneumokokken.

Gevoeligheidsbepalingen voor penicilline zijn noodzakelijk om de behandeling te sturen. **EUCAST heeft klinische breekpunten voor *Streptococcus viridans*** bepaald maar wat betreft ***Streptococcus viridans* endocarditis** wordt er expliciet verwezen naar de **nationale richtlijnen voor behandeling**. In België zijn er geen officiële nationale richtlijnen gepubliceerd. In de Sanford Guide to Antimicrobial Therapy Belgian/Luxembourg Edition wordt verwezen naar de Amerikaanse, Europese en Britse richtlijnen. **Voor bepaling van de gevoeligheid** volstaat de indeling SIR niet en **is een MIC bepaling noodzakelijk**. Uit de kalibratie van de zone diameter voor disk diffusie methode voor penicilline, door EUCAST, blijkt dat de disk diffusietechniek enkel kan gebruikt worden om *Streptococcus viridans* stammen met MIC waarden lager of gelijk aan 0.25 mg/L te onderscheiden van de resistente stammen met een MIC van groter dan 2 mg/L

EUCAST heeft ook klinische breekpunten voor high-level gentamicine resistentie. Indien MIC groter dan 128 mg/L dan is er geen synergie met penicillines of vancomycine.

Onderstaande tabel met de resultaten van de enquête werd gepubliceerd in het globaal rapport 2013/2.

Tabel 4 Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/12077(*Streptococcus viridans*)

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Penicilline	R	155	1	21	130	3 ¹
Ampicilline	R	105	2	8	90	5 ²
Amoxicilline ¹	R	7	1	1	5	-
Cefotaxime	R	114	10	36	65	3 ⁴
Ceftriaxone	R	94	6	19	67	2 ⁵
Erythromycine	R	129	27	34	63	5 ⁶
Clarithromycine ⁷		2	1	-	-	1 ⁶
Clindamycine	S	148	145	-	2	1 ⁹
Vancomycine	S	150	150	-	-	-
Linezolid	S	85	82	-	-	3 ¹⁰

¹ Drie laboratoria vermeldden dat een MIC-bepaling (die ze zelf niet uitvoeren) noodzakelijk is.

² Vier laboratoria vermeldden dat een MIC-bepaling (die ze zelf niet uitvoeren) noodzakelijk is. Eén laboratorium vermeldde dat er geen CLSI-criteria bestaan.

³ Zeven laboratoria hebben de gevoeligheid voor amoxicilline i.p.v. voor ampicilline getest.

⁴ Drie laboratoria vermeldden dat een MIC-bepaling (die ze zelf niet uitvoeren) noodzakelijk is.

⁵ Twee laboratoria vermeldden dat een MIC-bepaling (die ze zelf niet uitvoeren) noodzakelijk is.

⁶ Drie laboratoria vermeldden wel de diameter of MIC-waarde maar lieten de interpretatie open. Twee laboratoria vermeldden dat EUCAST “insufficient evidence” vermeldt voor dit antibioticum en deze kiem.

⁷ Twee laboratoria hebben de gevoeligheid voor clarithromycine i.p.v. voor erythromycine getest.

⁸ Eén laboratorium vermeldde voor de papieren schijfjes “I” en voor de Phoenix de MIC-waarde maar liet de interpretatie hiervan open.

⁹ Eén laboratorium vermeldde wel de diameter maar liet de interpretatie open.

¹⁰ Eén laboratorium vermeldde wel de diameter maar liet de interpretatie open. Twee laboratoria vermeldden dat EUCAST geen criteria heeft.

Aeromonas hydrophila M/4807

Drie laboratoria vermeldden in routine geen antibiogram uit te voeren en 4 andere laboratoria vermeldden wel de diameter of MIC-waarde zonder kwalitatieve interpretatie, wegens het ontbreken van EUCAST en/of CLSI-richtlijnen. Tevens vermeldden 4 laboratoria de richtlijnen voor enterobacteriaceae van EUCAST te gebruiken en twee laboratoria de richtlijnen voor enterobacteriaceae van de CLSI. Twee laboratoria vermeldden het gebruik van PK/PD breekpunten en twee andere eveneens het gebruik van PK/PD breekpunten en waar deze ontbreken het gebruik van de richtlijnen voor enterobacteriaceae van EUCAST. Eén laboratorium vermeldde de SFM richtlijnen te gebruiken. Tot slot antwoordden 2 laboratoria dat ze een voorlopig antibiogram doorgeven en de stam doorsturen voor bevestiging van het antibiogram.

Voor de meeste antibiotica stelden er zich geen problemen. Enkel voor amoxicilline-clavulaanzuur, waar het resultaat "R" verwacht werd, bleek dat +/- 1/3 van de laboratoria deze stam als gevoelig beschouwen.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2013/3.

Tabel 5 : Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/4788 (*Aeromonas hydrophila*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R/S	R	*
Amoxicilline-clavulaanzuur	R	150	51	22	1 ¹	72	4 ²
Cefotaxime	S	126	122 ³	1	-	-	3 ⁴
Ceftriaxone	S	56	55	-	-	-	1 ⁵
Ceftazidime ⁶	S	2	2	-	-	-	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole	S	153	147 ⁷	2	-	-	4 ⁸
Amikacine	S	129	124	1	-	-	4 ⁹
Gentamicine ¹⁰	S	4	4	-	-	-	-
Levofloxacin	S	82	80	-	-	-	2 ¹¹
Ciprofloxacin	S	148	144	-	-	-	4 ¹²
Norfloxacin ¹³	S	1	1	-	-	-	-
Ofloxacin ¹⁴	S	1	1	-	-	-	-

¹ Eén laboratorium geeft het volgende antwoord: "Discrepancie tussen Vitek, diskdiffusie en E-test: → Inductie van intrinsieke β-lactamases. Bij behandeling is combinatie met een aminoglycoside (amikacine) of fluorochinolone aangewezen om de inductie van β-lactamases te vermijden 1) J of microbiology, immunology and infection 2012, 45, 398-403, Chen et al 2) Up to date Aeromonas infections"

² Drie van de laboratoria die geen interpretatie geven behoren tot de hoger vermeldde laboratoria die voor geen enkel antibioticum een interpretatie geven maar enkel diameter of MIC-waarde. Een vierde laboratorium geeft enkel voor amoxicilline-clavulaanzuur de opmerking: "Zou niet geantwoord worden. Indien toch, "waarschijnlijk resistent"."

³ Eén laboratorium voorzag zijn antwoord van volgende opmerking: "Schijfjes Neosensitabs: 2 x groei tot tegen schijfje, 1 x 18 mm (S) voor AMC. E-test geeft 8 µg/mL: S. vermoedelijke aanwezigheid van induceerbaar ampC β-lactamase of cefalosporinase (aangetoond door schijfjes imipenem-piperacilline/tazobactam gaf afgeplatte rand aan de piptazo kant); →antwoord voor 3e generatiecefalosporine: onder therapie kan resistentie ontstaan met mogelijk therapiefalen."

⁴ Dit betreft drie van de laboratoria die behoren tot de hoger vermeldde laboratoria die voor geen enkel antibioticum een interpretatie geven.

⁵ Dit betreft één van de laboratoria dat behoort tot de hoger vermeldde laboratoria die voor geen enkel antibioticum een interpretatie geven.

⁶ Twee laboratoria hebben de gevoeligheid voor ceftazidime bepaald: één labo i.p.v. voor ceftriaxone; één labo i.p.v. voor cefotaxime en ceftriaxone.

⁷ Eén laboratorium voorzag zijn antwoord van volgende opmerking: "Nog niet gedefinieerd!!! Lage MIC-waarde."

⁸ Dit betreft de vier hoger vermeldde laboratoria die voor geen enkel antibioticum een interpretatie geven.

⁹ Drie van de laboratoria die geen interpretatie geven behoren tot de hoger vermeldde laboratoria die voor geen enkel antibioticum een interpretatie geven maar enkel diameter of MIC-waarde. Een vierde laboratorium geeft enkel voor amikacine de opmerking: "Resultaat wordt niet gerapporteerd."

¹⁰ Vier laboratoria hebben de gevoeligheid voor gentamicine bepaald i.p.v. voor amikacine.

- ¹¹ Dit betreft twee van de laboratoria die behoren tot de hoger vermeldde laboratoria die voor geen enkel antibioticum een interpretatie geven.
- ¹² Dit betreft de vier laboratoria die behoren tot de hoger vermeldde laboratoria die voor geen enkel antibioticum een interpretatie geven.
- ¹³ Eén laboratorium heeft de gevoeligheid voor norfloxacin bepaald i.p.v. voor levofloxacin.
- ¹⁴ Eén laboratorium heeft de gevoeligheid voor ofloxacin bepaald i.p.v. voor levofloxacin en ciprofloxacin.

Salmonella Duisburg M/4807

Deze stam was volledig gevoelig; op enkele uitzonderingen na, leverde het geen problemen op.

Onderstaande tabellen met resultaten werden gepubliceerd in het globaal rapport 2013/3.

Tabel 6 :Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/4807 (*Salmonella* Duisburg).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Ampicilline	S	157	146	1	10	-
Amoxicilline ¹	S	1	1	-	-	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	S	149	146 ²	1	-	2 ³
Cefotaxime	S	124	125 ²	1	-	1 ⁴
Ceftriaxone ⁵	S	10	10	-	-	-
Ceftazidime ⁶	S	1	1	-	-	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole	S	159	159	-	-	-
Chinolone						
Ciprofloxacin	S	128	111 ⁷	-	17 ⁸	-
Levofloxacin	S	21	19	-	2	-
Norfloxacin	S	7	7	-	-	-
Ofloxacin	S	1	1	-	-	-
Nalidixinezuur	S	5	2	-	2	1 ⁹
Chinolone ¹⁰	S	12	10 ¹¹	-	2	-

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

² Eén laboratorium geeft bij zijn resultaten "S" voor amoxicilline-clavulaanzuur en cefotaxime een opmerking dat deze resultaten in routine niet doorgegeven zouden worden.

³ Twee laboratoria geven wel een diameter of MIC-waarde voor amoxicilline-clavulaanzuur maar geen finaal resultaat doch ze vermelden dat dit antibioticum in routine niet geantwoord wordt voor deze kiem.

⁴ Eén laboratorium geeft wel een diameter voor cefotaxime maar geen finaal resultaat doch vermeldt dat dit antibioticum in routine niet geantwoord wordt voor deze kiem.

⁵ Tien laboratoria hebben de gevoeligheid voor ceftriaxone bepaald i.p.v. voor cefotaxime.

⁶ Eén laboratorium heeft de gevoeligheid voor ceftazidime bepaald i.p.v. voor cefotaxime.

⁷ Drie laboratoria voorzagen hun antwoord "S" van een opmerking:

- Mede op basis van resultaat "S" voor nalidixinezuur
- Vitek test geen MIC < 0.25 dus volgens de CLSI 2013 richtlijnen, weet men niet of de stam S of I is
- Als de stam afkomstig is uit een hemocultuur; moet de MIC voor ciprofloxacin bepaald worden met de E-test

⁸ Drie laboratoria voorzagen hun antwoord "R" van een opmerking:

- Twee laboratoria vermelden dat er een partiële resistentie aanwezig is voor de chinolones
- Eén laboratorium vermeldt: "Cipro R want sepsis??? Cfr EUCAST 2013"

⁹ Eén laboratorium vermeldt dat nalidixinezuur niet geantwoord wordt doch gebruikt wordt om de resistentie van extra-intestinale stammen tegen fluorochinolones te testen.

¹⁰ Twaalf laboratoria vermelden de naam van het gebruikte chinolone niet.

¹¹ Eén laboratorium vermeldt dat er a priori geen behandeling gegeven wordt voor een stam van intestinale oorsprong en dat gezien de afwezigheid van sepsis, de chinolones "S" geantwoord werden.

Er werden in 2013 drie enquêtes voor de evaluatie van het parasitologisch onderzoek georganiseerd.

Enquête 1

Er werden 2 bloeduitstrijkjes (P/5702 en P/7360) verstuurd.
172 laboratoria namen deel aan de enquête.

Staal P/5702 bevatte microfilaria van *Wuchereria bancrofti*.

Wuchereria bancrofti (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd geantwoord door 125 (73.1%) laboratoria. 119 (95.2%) onder hen antwoordden microfilaria als evolutiestadium.

38 (22.1%) laboratoria hebben de aanwezigheid van andere microfilaria geantwoord.

Het commentaar op de enquête beschreef ondermeer de levenscyclus, de geografische verspreiding, de nachtelijke periodiciteit (en de afwijkingen hierop te wijten aan het bestaan van varianten en aan fysiologische processen) en de diagnose. De laboratoriumdiagnose van infecties met *W. bancrofti* berust op het aantonen van microfilarinen in het perifere bloed. De larven zijn 240-300 µm lang en 7.5-10 µm breed en vertonen een schede die moeilijk of niet kleurt met Giemsa. De kernen zijn apart te onderscheiden en de eerste en laatste kernen zijn ovaal. De staart is puntig, meestal omgeplooid (niet bij deze EQC om wille van fixatie van het staal) en het uiteinde van de staart bevat geen kernen. Er is een korte lege kopvlek. Het onderscheid met andere microfilarinae die een schede hebben, wordt gemaakt door de aanwezigheid van (sub)terminale nucleï in de staart bij *B. malayi* en *B. timori* en het aankleuren van de schede van *B. timori* met Giemsa en de dicht opeenvolgende kernen en de aanwezigheid van kernen tot op einde van de staart bij *Loa loa*.

Tot slot werd vermeld dat lymfatische filariose op de lijst van uit te roeien ziekten staat.

Staal P/7360 bevatte trofozoïeten van *Plasmodium falciparum*.

Dit resultaat werd ook via PCR bevestigd.

Aangezien dit staal bij vele laboratoria echter problemen opleverde met de kleuring, werd de evaluatie van de resultaten van dit staal geschrapt. Het betrof hier een ouder staal, dat reeds gefixeerd was: deze factoren hebben wellicht bijgedragen tot de problemen.

Enkele laboratoria hebben desondanks hun resultaten hiervan bezorgd (met als antwoorden *Plasmodium falciparum* of *Plasmodium species*).

Enquête 2

Er werden 2 fecessuspensies in formol verstuurd: P/12197 en P/12198.

156 laboratoria namen deel aan deze enquête. Voor staal P/12198 hebben echter slechts 154 laboratoria een antwoord ingestuurd.

Staal P/12197 bevatte cysten van *Entamoeba dispar*.

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

Entamoeba histolytica/dispar, *histolytica* of *dispar* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd geantwoord door 124 (79.5%) laboratoria. De cysten werden vermeld door 118 (95.2%) onder hen.

30 laboratoria hebben een andere *Entamoeba* species dan *E. histolytica/dispar* geantwoord en 11 laboratoria "*Entamoeba* species".

Dit staal werd reeds verstuurd in de enquête 2009/1 (als P/8444).

Onderstaande tabel vergelijkt de resultaten bekomen in 2009 en 2013 voor ditzelfde staal.

Tabel 2.1 Comparaison des résultats pour le même échantillon envoyé dans les enquêtes 2009/1 et 2013/2.

Antwoord	P/8444 (2009/1)	P/12197 (2013/2)
<i>Entamoeba histolytica / dispar</i>	59.4%	58.3%
<i>Entamoeba dispar</i>	2.4%	1.9%
<i>Entamoeba histolytica</i>	24.1%	19.2%

Staal P/12198 bevatte eieren van *Enterobius vermicularis*.

Enterobius vermicularis (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd geantwoord door 127 (82.5%) laboratoria. De eieren werden vermeld door 122 (96.1%) onder hen.

Dit staal werd reeds verstuurd in de enquête 2009/2 (als P/8557).

Onderstaande tabel vergelijkt de resultaten bekomen in 2009 en 2013 voor ditzelfde staal.

Tabel 2.2 Vergelijking van de resultaten voor eenzelfde staal verstuurd in de enquêtes 2009/2 en 2013/2.

Parasiet	P/8557 (2009/2)	P/12198 (2013/2)
<i>Enterobius vermicularis</i>	88.9%	82.5%

Enquête 3

Ter gelegenheid van de 3^e enquête werden de foto's van 3 (zeldzame) parasieten op de website geplaatst (3 foto's per "staal"): P/12532, P/12533 en P/12534.

154 laboratoria namen deel aan deze enquête.

Foto's P/12532 toonden eieren van *Fasciola* species.

108 (70.1%) laboratoria vermeldden *Fasciola hepatica* en 42 (27.3%) *Fasciola* species, Voor *Fasciola* species vermeldden alle laboratoria het evolutiestadium "ei"; voor *Fasciola hepatica* antwoordden 103 (95.4%) "ei" en (4.6%) "onbevruucht ei".

Het commentaar op de enquête vermeldde dat vanuit het standpunt van het laboratorium het best mogelijke antwoord "eieren van Fasciolidae" is.

Foto's P/12533 toonden oöcysten van *Sarcocystis* species.

73 (47.4%) laboratoria vermeldden *Sarcocystis* species en 67 (43.5%) *Sarcocystis hominis*. Het evolutiestadium "oöcyste" werd door respectievelijk 22 (30.1%) en 23 (34.3%) onder hen vermeld. Respectievelijk 43 (58.9%) en 33 (49.3%) vermeldden als evolutiestadium "sporocyste".

Het commentaar op de enquête vermeldde dat bij de mens zowel *Sarcocystis sui hominis* als *Sarcocystis bovi hominis* (ook soms kortweg *S. hominis* genoemd) kunnen voorkomen. Microscopisch kan tussen deze twee soorten zo goed als geen onderscheid gemaakt

worden. Wanneer deze parasiet bij de mens teruggevonden wordt, is het correcter "Sarcocystis sp." te rapporteren.

Foto's P/12534 toonden eieren van *Trichostrongylus* species.

121 (78.6%) laboratoria vermeldden *Trichostrongylus* species, Het evolutiestadium "ei" werd geantwoord door 117 (96.7%) onder hen; 3 (2.5%) vermeldden "bevrucht ei" als evolutiestadium.

Het commentaar op de enquête vermeldde dat vergeleken met de eieren van *Trichostrongylus* sp. (superfamilie Trichostrongyloidea) de eieren van *Ancylostoma* en van *Necator* (superfamilie Ancylostomatoidea) kleiner zijn (55-75 µm) en meer afgeronde uiteinden hebben. De eieren van *Trichostrongylus* sp. hebben een lengte van 75-95 µm en hebben een uiteinde dat spits toeloopt.

Gebruik van de Toolkit

Het aantal antwoorden via geïnfomatiseerde weg (Toolkit) bedroeg respectievelijk 74.9%, 58.7% en 65.6% voor elk der 3 enquêtes.

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

In 2013 werden serologische parameters voor hepatitis B virus, hepatitis C virus, CMV, *Borrelia burgdorferi*, EBV en HIV geëvalueerd. Er werden eveneens 2 stalen verstuurd voor de detectie van het RSV-Ag. Het aantal deelnemers varieerde afhankelijk van de geëvalueerde parameter.

Hepatitis B

Er werden 2 stalen verstuurd, S/5625 en IS/6631.

Op beide stalen dienden zowel de HBV als HCV serologie uitgevoerd te worden. Voor de interpretatie werd gevraagd de beide parameters (HBV en HCV) samen te beoordelen (cfr. hoofdstuk 3.3 Interpretatie van HBV en HCV).

Beide stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:
" Screening tijdens de zwangerschap"

De verwachte resultaten voor HBV waren:

S/5625:

HBsAg positief
HBsAs negatief
HBcAs positief
HBeAg negatief
HBeAs positief

IS/6631:

HBsAg negatief
HBsAs negatief
HBcAs negatief
(HBeAg negatief)
(HBeAs negatief)

165 Belgische en Luxemburgse klinische laboratoria hebben de hepatitis B serologie uitgevoerd. 118 (71.5%) onder hen hebben hun resultaat doorgestuurd via elektronische weg (toolkit).

Voor staal S/5625 voerden de 165 laboratoria 723 testen uit die als volgt verdeeld waren:

- HBs Ag: 174 testen
- HBs Ag confirmatie: 17 testen
- anti-HBs As: 160 testen
- anti-HBc totale As: 159 testen
- IgM anti-HBc: 4 testen
- HBe Ag: 106 testen
- anti-HBe As: 103 testen

3 laboratoria voerden 1 test uit, 4 laboratoria 2 testen, 44 laboratoria 3 testen, 10 laboratoria 4 testen, 87 laboratoria 5 testen, 14 laboratoria 6 testen en 3 laboratoria 7 testen.

Voor staal IS/6631 voerden de 165 laboratoria 666 testen uit die als volgt verdeeld waren:

- HBs Ag:171 testen
- anti-HBs As:160 testen
- anti-HBc totale As:159 testen
- IgM anti-HBc:2 testen
- HBe Ag:88 testen
- anti-HBe As:86 testen

Vier laboratoria voerden 1 test uit, 3 laboratoria 2 testen, 67 laboratoria 3 testen, 5 laboratoria 4 testen, 82 laboratoria 5 testen, 3 laboratoria 6 testen en 1 laboratorium 7 testen.

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- HBsAg: Architect HBsAg (Abbott) (24.7% en 25.7%), Cobas HBsAg II (Roche) (14.4% en 14.0%), VIDAS HBsAg Ultra (bioMérieux) (10.3% en 8.8%), ADVIA Centaur HBsAg (Siemens) (7.5% en 7.6%) en Modular HBsAg II (Roche) 7.5% en 7.6%)
- Anti HBs As: Architect anti-HBs (Abbott) (26.9%, beide stalen), Cobas anti-HBs (Roche) (17.5%, beide stalen), Modular anti-HBs (Roche) (9.4%, beide stalen) en ADVIA Centaur anti-HBs 2 (Siemens) (7.5% en 6.9%)
- Anti HBc totale As: Architect anti-HBc (Abbott) (27.7%, beide stalen), Cobas anti-HBc (Roche) (15.7%, beide stalen), Modular anti-HBc (Roche) (9.4%, beide stalen), VIDAS anti-HBc Total II (bioMérieux) (8.2% en 8.8%) en ADVIA Centaur anti-HBc Total (Siemens) (7.5%, beide stalen)
- HBeAg: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (38.7% en 35.2%), Architect HBeAg (Abbott) (22.6% en 22.7%), Cobas HBeAg (Roche) (9.4% en 10.2%) en LIAISON HBe (DiaSorin) (9.4% en 9.1%)
- Anti HBe As: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (35.9% en 32.6%), Architect anti-HBe (Abbott) (22.3% en 22.1%), Cobas anti-HBe (Roche) (9.7% en 10.5%) en LIAISON anti-HBe (DiaSorin) (9.7% en 10.5%)

De resultaten kunnen als volgt samengevat worden :

S/5625: alle deelnemers vonden HBsAg positief (inclusief de HBsAg confirmatie in geval ze deze uitvoerden), 88.1% de anti-HBsAs negatief, 99.4% vonden de totale anti-HBc As positief, alle deelnemers de HBc IgM negatief, 99.1% het HBeAg negatief en 99.0% de anti-HBe As positief.

IS/6631: 99.4% van de deelnemers vonden het HBsAg, de anti-HBs As en de totale anti-HBc negatief; alle deelnemers de HBc IgM, het HBeAg en de anti-HBe As negatief.

Hepatitis C

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

De verwachte resultaten waren:

S/5625:	HCV-antistoffen negatief
IS/6631:	HCV-antistoffen positief

161 Belgische en Luxemburgse klinische laboratoria hebben de anti-HCV antistoffen bepaald. 117 (72.7%) onder hen hebben hun resultaat doorgestuurd via elektronische weg (toolkit).

Op staal S/5625 voerden 155 laboratoria 1 test uit en 6 laboratoria 2 testen (in totaal dus 167 testen) en op staal IS/6631 voerden 145 laboratoria 1 test uit en 16 laboratoria 2 testen (in totaal dus 177 testen).

De meest gebruikte kits waren: Architect HCV (Abbott) (27.5% en 26.6%), Cobas e anti-HCV II (Roche) (10.2% en 9.6%), ADVIA Centaur HCV (Siemens) (10.2% en 9.6%), Cobas e anti-HCV (Roche) (9.6% en 9.0%), Vitros Immunodiagnostic Products anti-HCV (Ortho Diagnostics) (9.0% en 8.5%) en Access HCV Ab Plus op Unicel Dxl 800 (Biorad) (8.4% en 7.9%)

160 (99.4%) laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor staal S/5625 en een positief resultaat voor staal IS/6631. Één laboratorium heeft vermoedelijk beide stalen verwisseld.

Interpretatie van HBV en HCV

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

De verwachte interpretaties waren:

S/5625: "Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie"

IS/6631: "Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken"

156 (96.9%) laboratoria gaven voor S/5625 de interpretatie "Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie". Twee laboratoria kozen voor "Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken." De drie overige laboratoria verwezen naar chronische infectie met HBV en/of chronisch dragerschap van HBV zonder evidentie voor HCV.

159 (98.8%) laboratoria gaven voor IS/6631 de interpretatie "Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken" of een variant hierop. Eén laboratorium koos voor "Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; er is evenmin evidentie voor hepatitis C virus infectie" en één laboratorium voor "Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken."

Het commentaar op de enquête vermeldde voor HBV dat de resultaten van HBsAg en HBeAg uitstekend waren. Wel viel het erg beperkt aantal uitgevoerde serologische confirmaties voor AgHBs op. Voor de anti-HBs bepalingen was er iets meer variatie in de antwoorden met in totaal 19 niet-negatieve resultaten, waarvan 14 borderline. Er was overlap merkbaar in de kwantitatieve resultaten van laboratoria die borderline en negatief geantwoord hebben. Hier dient even het **belang aangehaald van opvolging in de tijd aan de hand van een onafhankelijke (firma-onafhankelijke) runcontrole in de tijd**, gezien er niet zeldzaam wat variatie wordt gezien bij overgang van één reagens-lot naar een ander, en mogelijk zelfs van één reagenskit naar een andere binnen eenzelfde lot. Ook opvallend was het beperkt gebruik van IgM anti-HBc analyses (n=4 voor S/5625). Op zich is **anti-HBc IgM een goede merker**: positiviteit indiceert recente infectie met HBV (< 6 maanden). Bij AgHBs screening die positief blijkt, kan een gecombineerde positieve anti-HBc totale As met positieve IgM anti-HBc, een infectie doen besluiten.

De primaire prenatale HBV-screening dient steeds te gebeuren dmv consequente bepaling van AgHBs, idealiter met mogelijkheid tot uitvoer van een confirmatietest. Deze screening van zwangere vrouwen voor AgHBs dient te gebeuren tijdens elke zwangerschap. Zo gauw AgHBs positief bevonden wordt, is het aangewezen om een volledig serologische oppuntstelling door te voeren, en zou de patiënte steeds dienen doorverwezen te worden naar een hepatoloog voor verdere exacte HBV-status bepaling en nabije follow-up van de infectie pre- en postnataal, waar aangewezen.

Complementair aan de kennis van AgHBe-status van de patiënte, duiken er steeds meer wetenschappelijke argumenten op die aanraden om **standaard een qPCR HBV met hoge analytische sensitiviteit te laten gebeuren bij een zwangere dame**. Dit niet om als confirmatietest te functioneren, maar **teneinde haar HBV-status en risico's wat betreft HBV transmissie exact te definiëren, en de nodige (therapeutische) maatregelen te nemen** o.a. naar foetus en partus toe. **Enkel de medische specialist** die het volledige dossier van de patiënte in kwestie voldoende kent, **is in staat om het belang en noodzaak van qPCR HBV** in elk individueel geval juist **in te schatten** en toe te passen. Na deze EKE valt toch wel enigszins op dat meer dan 60% van de laboratoria die complementaire testen suggereren, onmiddellijk PCR aanraden als eerstelijns confirmatietest. De plaats van de serologische confirmatietesten lijkt hierdoor onterecht op de helling komen te staan. Het commentaar gaf vervolgens een uitgebreide beschrijving van de definitie en de verschillende stadia van chronische HBV: wij verwijzen hiervoor naar het globaal rapport van de enquête. Ook de behandeling van HBV-infecties bij zwangeren en het belang van HBV-genotypering werden besproken.

Ook voor HCV vermeldde het commentaar dat de resultaten uitstekend waren. Er werd wel aangehaald dat qua juiste interpretatie HCV-status en inschatting van infectieuze risico's een **PCR HCV absoluut noodzakelijk is om actieve virale replicatie te objectiveren in zwangere patiënte, en met die kennis de bevalling en follow-up van neonaat te benaderen**.

Wat betreft **HCV tijdens de zwangerschap** werd vermeld dat **het voorkomen van verticale HCV transmissie laag is (1-6%)**. Factoren die consistent geassocieerd zijn aan een verhoogd risico op perinatale HCV transmissie includeren de aanwezigheid van maternaal HCV RNA op moment van bevalling (sommige maar niet alle studies bevestigen dat een hoge concentratie HCV RNA in serum/plasma samenhangt met een hoger risico op transmissie) en HIV-coïnfectie bij de moeder. Transmissie zou frequenter voorkomen bij vrouwelijke foetus/neonaat dan bij jongens. Bijkomend zal een geschiedenis van maternaal IV druggebruik op zichzelf, onafhankelijk van HIV-1 coïnfectie, een belangrijke predisponerende factor zijn voor perinatale HCV transmissie. Daarenboven zal een voorgaand verhaal van maternale posttransfusie hepatitis (gelukkig erg zeldzaam sinds jaren '90) hoog gerelateerd zijn met verticale transmissie. **Antivirale behandeling van HCV gedurende de zwangerschap is actueel uitgesloten** gezien de teratogene (en embryocide in proefdieronderzoek) eigenschappen van ribavirine. Ook de nieuwere protease-inhibitoren zijn niet goedgekeurd voor gebruik tijdens zwangerschap.

RSV-Ag

Er werden 2 stalen (Ag/12121 en Ag/12122) rondgestuurd waarop de bepaling van het RSV-antigen gevraagd werd. Beide stalen waren positief.

Aan deze enquête namen 133 laboratoria deel.

Op beide stalen voerden 126 laboratoria 1 test uit en 7 laboratoria 2 testen (in totaal dus 140 testen).

48.1% van de laboratoria hebben hun antwoord via de elektronische database (Toolkit) ingestuurd.

De meest gebruikte reagentia waren BinaxNOW RSV (Alere Health) (40.0%), RSV K-Set (Coris Bioconcept) (20.0%), Tru RSV (Meridian) (13.6%) en Directigen EZ RSV test kit (Becton Dickinson) (8.6%),

Voor staal Ag/12121 bekwamen 130 (97.7%) laboratoria een positief resultaat, 2 een borderline en één laboratorium bekwam verschillende resultaten (positief en negatief) met de 2 kits die het gebruikte. Staal Ag/12122 werd door alle laboratoria als positief bevonden.

Het commentaar benadrukte dat testen gebaseerd op RSV antigen detectie enkel geschikt zijn voor symptomatische kinderen jonger dan 5 jaar. De FDA heeft deze testen enkel goedgekeurd voor deze doelgroep en dit staat ook expliciet vermeld in de bijsluiters van de kit.

Bij oudere kinderen en volwassenen is het verloop van een RSV infectie vaak veel minder ernstig. Het uitvoeren van diagnostiek van RSV bij deze populatie moet niet algemeen gepromoot worden.

Het commentaar stelde eveneens vast dat er geen majeure problemen opgetreden waren tijdens de enquête.

Borrelia

Er werden 2 gelyofiliseerde plasmamonsters verstuurd, IS/8946 en IS/12199 waarop antistoffen tegen Borrelia bepaald dienden te worden.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

Staal IS/8946

Bloedname uitgevoerd bij 60-jarige boswachter die sinds enkele weken gewrichtspijnen heeft.

Staal IS/12199

Bloedname uitgevoerd bij een 15-jarige jongen, die in een bosrijke omgeving woont en bij wie een paarse nodulus ter hoogte van de rechter oorlel vastgesteld werd.

Onder dit staalnummer werden naar de laboratoria met even en oneven erkenningsnummer echter verschillende stalen verstuurd.

De verwachte resultaten waren :

IS/8946: IgG negatief
IgM negatief
Interpretatie: Afwezigheid van antistoffen

IS/12199:
Even laboratoria
IgG positief
IgM negatief
Interpretatie: Aanwezigheid van antistoffen

Oneven laboratoria
IgG negatief
IgM negatief
Interpretatie: Afwezigheid van antistoffen

129 klinische laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 260 testen uit op staal IS/8946; op staal IS/12199 voerden de 76 even laboratoria 171 testen uit en de 53 oneven laboratoria 108 testen.

Het aantal toolkitgebruikers bedroeg 70.5%.

De verdeling van de gebruikte testen in functie van de gebruikte technieken wordt weergegeven in tabel S1.

Tabel S1 Verdeling der gebruikte testen in functie van de techniek voor bepaling van anti-Borrelia antistoffen, enquête 2013/1.

N testen	Aard kit	Type techniek	IS/8946	IS/12199 (even)	IS/12199 (oneven)
1 test	Tot. As.	algemeen	3	1	-
		anti-C6	8	4	3
2 testen	IgG en IgM	nietblot - nietblot	111	53	47
3 testen	Tot. As. en IgG en IgM	algemeen – nietblot – nietblot	-	1	-
		algemeen – blot – blot	-	1	-
		antiC6 – blot – blot	-	1	-
	2 x IgG en IgM	nietblot – blot- nietblot	1	9	1
4 testen	2 x IgG en 2 x IgM	nietblot – nietblot - nietblot - nietblot	2	1	1
		nietblot – blot – nietblot – blot	4	5	1
Totaal			129	76	53

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- totale antistoffen (zelfde percentages voor beide stalen): C6 B. burgdorferi (Lyme) ELISA (Immunitics (72.7%) en VIDAS Lyme IgG+IgM (bioMérieux) (27.3%)
- IgG: Liaison Borrelia IgG (Diasorin) (42.4% en 38.1) en VIDAS Lyme IgG (bioMérieux) (32.8% en 29.5%)
- IgM: Liaison Borrelia IgM II (Diasorin) (39.5% en 33.1%) en VIDAS Lyme (IgM) (bioMérieux) (38.0% en 31.8%)

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de totale antistoffen, de IgG en de IgM voor staal IS/8946 ongeacht de gebruikte techniek.

128 (99.2%) laboratoria gaven de interpretatie "Afwezigheid van Borrelia antistoffen"; één laboratorium koos voor de interpretatie "Herhaling van de 2 testen binnen 4-6 weken".

Staal IS/12199: even laboratoria

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de totale antistoffen, ongeacht de gebruikte techniek.

Voor de niet-blot testen voor IgG bekwamen 62 (89.8%) laboratoria een positief resultaat, drie een borderline en vier een negatief resultaat. Voor de IgG blottesten bekwamen 17 laboratoria een positief resultaat en 3 een borderline.

Voor de IgM, bekwamen 67 (97.1%) laboratoria een negatief resultaat en twee een borderline met de non-blottechnieken; met de blottechnieken bekwamen allen een negatief resultaat.

57 (75.0%) laboratoria gaven de interpretatie "Aanwezigheid van Borrelia antistoffen"; 8 (10.5%) laboratoria kozen voor "Aanwezigheid van Borrelia antistoffen. Het serologisch resultaat ondersteunt de diagnose van Lyme borreliosis niet indien de klachten al meer dan 6 weken aanwezig zijn". Drie laboratoria verwezen naar de aanwezigheid van IgG antistoffen en 4 kozen voor de interpretatie "Afwezigheid van antistoffen". Vier laboratoria gaven een eigen (meer op de kliniek gerichte) interpretatie.

Staal IS/12199: oneven laboratoria

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de totale antistoffen, de IgG en de IgM, ongeacht de gebruikte techniek en gaven de interpretatie "Afwezigheid van Borrelia antistoffen".

Voor staal IS/8946 stelden enkele laboratoria een herhaling van de testen voor na 2-4 of 4-6 weken. Gezien het een patiënt met gewrichtsklachten betreft, kan verondersteld worden dat antilichamen al aanwezig hadden moeten zijn en is de herhaling van het onderzoek overbodig.

Het commentaar ging eveneens nader in op de problematiek die gesteld werd door het naar de even laboratoria verstuurde staal IS/12199. De aanwezigheid van IgG-antilichamen in afwezigheid van IgM-antilichamen wijst op een infectie in het verleden. Antilichamen kunnen vele jaren aanwezig blijven en beschermen niet tegen een nieuwe besmetting. In dit specifieke geval zou men kunnen afzien van een immunoblot gezien er geen verband is tussen de aanwezigheid van de IgG-antilichamen en het klinisch beeld.

In het algemeen geldt nog steeds de 2-steps diagnostiek. Hoewel 3e generatie EIA's die gebruik maken van specifieke recombinante antigenen of specifieke synthetische peptiden (C6), duidelijk een grotere specificiteit hebben dan de 2^e generatie testen, is deze nog steeds lager dan die van immunoblots en blijft de 2-steps diagnostiek **ook bij gebruik van 3^e generatie-testen** best behouden.

Ondanks een serologisch profiel eerder passend bij een infectie in het verleden, was het klinisch beeld suggestief voor een *Borrelia*-lymfocytoom, zoals door verschillende laboratoria werd opgemerkt. In 2-3% van de gevallen uit de ziekte van Lyme zich als lymfocytoom, eventueel in aanwezigheid van of voorafgegaan door een erythema migrans. Een lymfocytoom komt vaker voor bij kinderen en in dat geval bij voorkeur aan de oorlel of helix. Bij volwassenen vindt men het aan de tepelhof of het scrotum. Hoewel patiënten meestal

seropositief zijn wanneer ze zich bij hun arts aanbieden, is het mogelijk dat nog geen antilichamen aantoonbaar zijn wanneer het klinisch beeld zich voordoet. Zowel bij de even (staal met aanwezigheid van IgG-antilichamen) als oneven laboratoria (staal zonder *Borrelia*-antilichamen) werd als opmerking gegeven dat, **gezien het klinisch beeld gelijkend op een *Borrelia*-lymfocytoom, de serologie herhaald moest worden.** Indien de kliniek en anamnese onvoldoende duidelijkheid geven over de diagnose, is dit inderdaad aangewezen.

CMV

Er werden 2 stalen rondgestuurd voor CMV-serologie.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

IS/12200: De ouders van een kindje van 8 jaar raadplegen de huisarts omdat het kind een griepaal syndroom vertoont met koorts, spierpijnen en algemeen gevoel van onwelzijn. Het staal werd afgenomen 3 weken na de start van de klinische symptomen.

IS/12201: Twee weken nadien raadpleegt moeder van het kind de huisarts zich met dezelfde klachten. Zij is twee maanden zwanger.

De verwachte resultaten waren :

IS/12200: IgG positief
 IgM positief

IS/12201: IgG positief
 IgM positief

Deze stalen werden reeds verstuurd in de enquête 2008/1 onder de respectievelijke staalnummers S/7800 en S/7801.

159 klinische laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 417 testen uit op staal IS/12200 en 424 testen op staal IS/12201.

Het aantal toolkit gebruikers bedroeg 71.1%.

Onderstaande tabel geeft de uitgevoerde parameters per laboratorium weer.

Tabel S2 Aantal deelnemers verdeeld per uitgevoerde parameters

N testen	Parameter	Aantal labo's	
		IS/12200	IS/12201
1 test	IgG	3	3
2 testen	Totale AS + IgG	1	1
	IgG + IgM	78	73
3 testen	IgG + IgM + IgG aviditeit	54	58
	IgG + 2 IgM	6	6
4 testen	IgG + 2 IgM + IgG aviditeit	8	8
	2 IgG + IgM + IgG aviditeit	1	1
5 testen	2 IgG + 2 IgM + IgG aviditeit	8	8
	IgG + 2 IgM + 2 IgG aviditeit	-	1
Totaal		159	159

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- IgG (zelfde percentages voor beide stalen): Architect CMV IgG (27.4%), Liaison CMV IgG (Diasorin) (16.7%), VIDAS CMV IgG (bioMérieux) (16.7%) en Cobas CMV IgG (Roche) (14.3%)
- IgM: Architect CMV IgM (23.7% en 23.6%), VIDAS CMV IgM (bioMérieux) (22.0% en 23.0%), Liaison CMV IgM (Diasorin) (15.8% en 15.2%) en Cobas CMV IgM (Roche) (13.6% en 13.5%)
- Aviditeit: VIDAS CMV IgG avidity (bioMérieux) (64.8% en 64.9%) en Liaison CMV IgG avidity (Diasorin) (19.7% en 19.5%)

De resultaten kunnen als volgt samengevat worden:

Het laboratorium dat de totale antistoffen bepaalde, bekwam een positief resultaat voor staal IS/12200.

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de IgG voor dit staal.

124 (80%) laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de IgM; 13 bekwamen een borderline resultaat, 10 een negatief en 8 verschillende resultaten (positief/borderline) met de verschillende kits die ze gebruikten

37 laboratoria bekwamen een intermediair resultaat voor de aviditeit, 26 een laag en 7 een hoog; 1 labo gaf enkel het kwantitatieve resultaat van de aviditeit weer.

83 (52.2%) laboratoria gaven de interpretatie "Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie" of een variant hierop. 52 (32.7%) laboratoria vermeldden "Positieve reactie in de IgM assay voor CMV; om een primaire CMV-infectie uit te sluiten is een bevestiging nodig" (deze bevestiging kan via bijkomende testen, nieuwe staalname, combinatie hiervan of nog andere wijze gebeuren) of een variant hierop. 21 (13.2%) laboratoria antwoordden "Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte CMV infectie". Drie laboratoria verkozen geen interpretatie weer te geven aangezien zij enkel de IgG bepaalden.

Het laboratorium dat de totale antistoffen bepaalde, bekwam een positief resultaat voor staal IS/12201.

156 (89.1%) laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de IgG voor dit staal. Twee laboratoria bekwamen een borderline resultaat. Eén laboratorium bekwam verschillende resultaten (positief/borderline) met de verschillende kits die het gebruikte.

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de IgM voor dit staal.

65 laboratoria bekwamen een lage aviditeit, vijf een hoge, vier een intermediaire en één laboratorium bekwam verschillende resultaten (hoog/laag) met de verschillende kits die het gebruikte; één labo gaf enkel het kwantitatieve resultaat van de aviditeit weer.

93 (58.5%) laboratoria gaven de interpretatie "Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie" of een variant hierop. 62 (39.0%) laboratoria vermeldden "Positieve reactie in de IgM assay voor CMV; om een primaire CMV-infectie uit te sluiten is een bevestiging nodig" (deze bevestiging kan via bijkomende testen, nieuwe staalname, combinatie hiervan of nog andere wijze gebeuren). 1 laboratorium antwoordde "Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie maar een reïnfectie kan niet uitgesloten worden". Drie laboratoria verkozen geen interpretatie weer te geven aangezien zij enkel de IgG bepaalden.

De firma's waarvan een groot aantal gebruikers een negatief en/of borderline resultaat bekwamen voor de IgM voor staal IS/12200, werden gecontacteerd met de vraag de stalen te onderzoeken.

Het referentiecentrum (CPLS in Marseille) van de firma Analis (Acces, Unicel) deelde ons mee dat zij de (borderline) resultaten van de Belgische deelnemers konden bevestigen. Deze vaststelling zal verder worden opgevolgd (gemonitord) om een mogelijke frequentie van voorkomen te schatten.

De firma bioMérieux bezorgde ons volgende informatie:

« **Analyse van de resultaten met Vidas CMVM:**

IS/12200 : Van de 39 resultaten van de Vidas CMVM, die we konden beoordelen, varieerden de waarden van **0.84** (borderline) tot **1.24** (positief).

De borderline zone van Vidas CMVM is $>$ of $= 0.7$ tot < 0.9 .

De vastgestelde interlot variabiliteit bij onze gebruikers is kleiner dan deze die verwacht wordt bij interne lot controles.

Bijvoorbeeld, een serum (gebruikt wordt in de serotheek van het controle laboratorium) met een target van 1.12 zal als grenzen 0.78 - 1.46 hebben.

De resultaten die door de Belgische laboratoria bekomen werden bij deze kwaliteitscontrole zijn binnen de grenzen die verwacht worden voor onze kit.

Het is aanvaardbaar dat er borderline resultaten bekomen worden voor een zwak positief staal. In deze studie waren er 7 borderline resultaten op 39 testen, met andere woorden minder dan 20% van de bepalingen. Deze ratio is coherent met de bepalingen die met andere technieken bekomen werden.

Verdere interne onderzoeken zullen geen bijkomende informatie opleveren, noch met betrekking tot de target (zwak positief), noch met betrekking tot de variabiliteit van deze QC.”

De firma Siemens bezorgde ons volgende informatie:

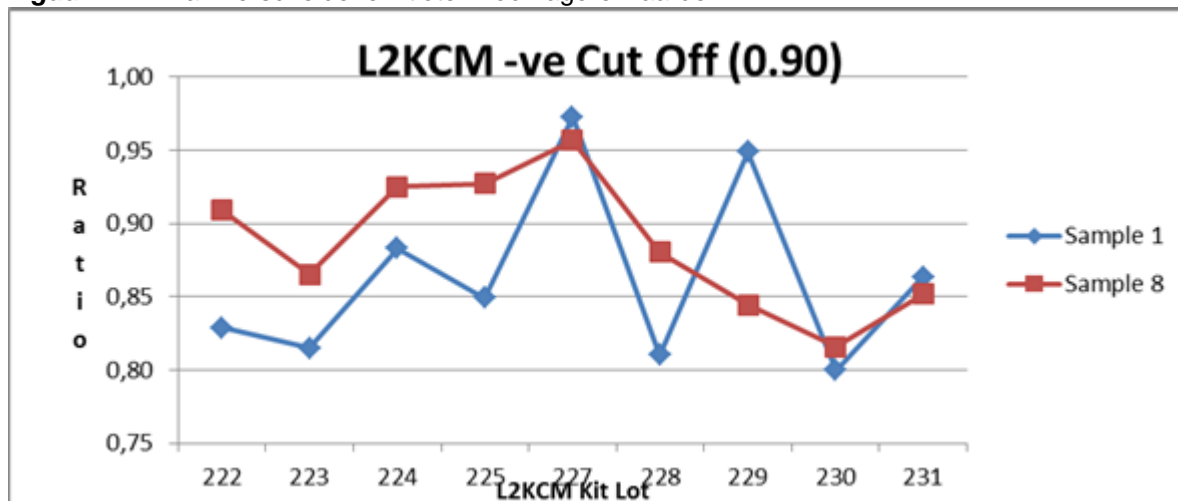
“Allereerst, is de precisie nagegaan van de kit door de variabiliteit te analyseren van elk kitlot aan de hand van de kalibrator daar deze zich qua waarde situeert in de lagere cut off en gebruikt wordt voor de toelatingscriteria voor het ter beschikking stellen van het kitlot voor de klanten (tabel S3).

Tabel S3 precisierun voor de CMV IgM kitloten

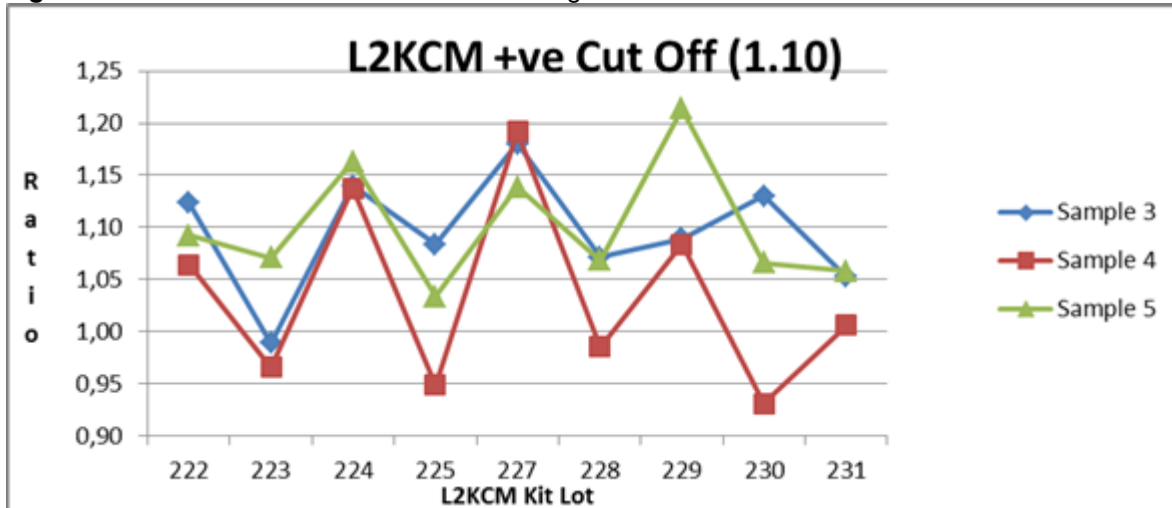
L2KCM Adjustor Precision Run on Bead Pre Pack										
L2KCM Kit Lot	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231
Ratio	0.88	0.85	0.87	0.85	0.92	0.83	0.88	0.89	0.88	0.84
%CV	2.90	2.97	4.41	2.33	6.35	5.67	4.70	3.66	4.37	4.25
Acceptance Criteria SPE-L-187	Less than or equal to 15%									

De kitloten 227 en 228, betrokken in de afwijkende resultaten van de survey, zijn vermeld en vertonen een precisie gevalideerd voor gebruik daar ze beantwoorden aan de criteria. Daarnaast zijn deze kitloten ook gebruikt voor het verifiëren van de efficiëntie (Value efficiency; ve) in het bepalen van stalen met een waarde hoger en lager dan de vooropgestelde cut-off weergegeven in figuur 1 en 2.

Figuur 1: VE van verscheidene kitloten voor lagere waarden



Figuur 2: VE van verscheidene kitloten voor hogere waarden



Zoals u kunt vaststellen, rapporteren de meeste kitloten de vooropgestelde waarden correct waardoor we kunnen stellen dat onze assay wel degelijk in staat is het onderscheid te maken tussen reactief en niet-reactief. De variabiliteit in patientenstalen reflecteert zich ook in de prestatie van de kit maar met respect tot de klinische relevantie: bvb kitlot 228 rapporteert voor staal 1 een waarde tussen 0,85 en 0,90 en voor staal 8 een waarde tussen 0,8 en 0,85. Beide stalen zijn verschillend van waarden maar vallen nog steeds in het criterium van negatief (niet-reactief) zoals vooropgesteld in onze bijsluiters.

Daar bovenstaande onderzoeken interne validatie vertegenwoordigen, zijn we vervolgens gaan kijken naar de prestatie van onze assay voor een onafhankelijke externe controle waaraan de meeste van onze assays ook onderworpen worden naast het WIV zijnde de UK Neqas Microbiology 'Diagnostic Serology Hepatitis' waarbij CMV IgM als een parameter is opgenomen. In alle rapporten van het laatste jaar (Okt 2012 – Apr 2013), kunnen we vaststellen dat de Siemens IMMULITE 2000/XPi CMV IgM assay correct rapporteert.

Daarnaast hebben we ook de CAP (College of American Pathologists) rapporten bekeken voor de prestatie van de Siemens IMMULITE 2000/XPi CMV assays daar deze controlerondes gebruik maken van gepoolde stalen met artificiële matrix. Voor beide rapporten (VR3-A en VR3-B) presteert de Siemens IMMULITE 2000/XPi CMV assay zeer goed: voor VR3-B (ronde met positieve aanwezigheid van IgM en IgG Ab) scoort IMMULITE 2000/XPi 100% consistent voor alle componenten en het dient opgemerkt te worden dat voor de CMV IgM analyse er variabiliteit bestaat in de gerapporteerde resultaten tussen de verscheidene commercieel beschikbare assays. Voor VR3-A (ronde met afwezigheid van IgM en IgG Ab) scoort de Siemens IMMULITE 2000/XPi CMV assay bijna 100% voor alle componenten met uitzondering van IgG waar in totaal 7 deelnemers discordant rapporteerden waaronder 1 IMMULITE gebruiker.

Gegeven deze informatie, kunnen we stellen dat de Siemens IMMULITE 2000/XPi CMV IgM functioneert zoals behoren en volgens de gestelde richtlijnen. Aangezien de veelvuldige analyses van het staal S/12200 uitgevoerd door Siemens Global steeds resulteert in een negatief resultaat dicht tegen de cut-off (tussen 0,8 en 0,9) kunnen we alleen maar stellen dat de integriteit van het staal tot dit resultaat geleid heeft. Deze observatie zien we ook voor de laatste survey waar het staal door nagenoeg alle gebruikers als negatief wordt ervaren waar in 2008 nog een zeer zwak positief resultaat werd bekomen.”

De firma bioMérieux heeft eveneens een onderzoek verricht naar de aviditeit op de 2 stalen (IS/12200 et IS/12201). U vindt hun conclusies hieronder:

« **Analyse van de resultaten bekomen met Vidas CMV aviditeit :**

De volgende resultaten werden onderzocht:

IS/12200: n = 46; 20 laag; 25 intermediair en 1 oninterpreteerbaar.

Op N = 45, mediaan = 33.4% met min 23.0% en max 56.0%

De resultaten in % werden omgerekend naar de verhouding zoals die in de insert vermeld wordt, met andere woorden resultaten tussen **0.23** en **0.56**

1^e hypothese: Gebruik van de kit Vidas CMVU --> niet mogelijk want alle resultaten zullen intermediair zijn (0.20 - 0.80)

2^e hypothese: Gebruik van de kit CMVA --> coherent met een intermediaire zone tussen 0.40 en 0.65

IS/12201: n = 50; 46 laag; 3 intermediair en 1 oninterpreteerbaar.

Op N = 49, mediaan = 16.0% met min 10.0% een max 27.0%

De resultaten in % werden omgerekend naar de verhouding zoals die in de insert vermeld wordt, met andere woorden resultaten tussen **0.10** en **0.27**

1^e hypothese: Gebruik van de kit Vidas CMVU --> coherent met een intermediaire zone tussen 0.20 en 0.80

2^e hypothese: Gebruik van de kit Vidas CMVA --> niet mogelijk want alle resultaten zullen laag zijn

Het meest waarschijnlijk is een « mengsel » van de resultaten van de twee verschillende kits die verschillende interpretaties hebben. Is het mogelijk dit te bevestigen door analyse van de gedetailleerde resultaten?

Verdere interne onderzoeken zullen geen bijkomende informatie opleveren:

IS/1200 met een target van 0.33 waarvan de interpretatie verschillend zal zijn naargelang de gebruikte kit.

IS/1201 met een target van 0.16 waarvan de interpretatie laag zal zijn in de meerderheid van de gevallen maar ze kan als intermediair bevonden worden met de Vidas CMVU gezien ze in de buurt ligt van de ondergrens van de intermediaire zone.”

Het onderzoek van de firma Abbott op het staal bevestigde de resultaten bekomen door de deelnemers (hoge waarden voor Architect en lage waarden voor andere methoden).

Het commentaar op de enquête vermeldde dat voor staal IS/12200 de overgrote meerderheid van deelnemers, 93,5% (145 van 155), een positief en/of positief/borderline resultaat voor CMV IgM gerapporteerd hebben: gezien het een staal betreft met een CMV IgM resultaat dicht bij de cut-off waarden voor positiviteit kunnen al deze resultaten als aanvaardbaar beschouwd worden. Een ziekte duur van 3 weken kan reeds een daling van CMV IgM laten veronderstellen. 45% (71 van 159) van de laboratoria hebben op dit staal een CMV IgG aviditeitsbepaling uitgevoerd. Slechts 20% (14 van 71) van de laboratoria die een CMV IgG aviditeitsbepaling hebben uitgevoerd, hebben vermeld dat ze de test niet in routine zullen uitvoeren op dit staal. **Een CMV IgG aviditeitsbepaling kan echter in deze klinische context niet gerechtvaardigd worden en dient gebruikt te worden bij klinische situaties waarbij de effectieve timing van de infectie gevolgen voor het therapeutisch beleid met zich brengt** (eg. 1^{ste} trimester van de zwangerschap zoals de casus bij het staal S/12201). In de klinische situatie van staal IS/12200 kan CMV IgG aviditeit als een overbodige bepaling beschouwd worden (zie hoger) en zal het rechtstreeks opsporen van CMV (urinekweek, PCR) geen bijkomend diagnostisch voordeel bieden gezien virale uitscheiding tijdens zowel primaire als secundaire infecties in diverse lichaamsvochten. Voor staal IS/12201 hebben 7% van de laboratoria verkeerdelijk een hoge aviditeit gerapporteerd. De analytische bevinding van hoge CMV IgG aviditeit heeft tot de foutieve interpretatie van reïnfectie of reactivatie geleid. Deze bevindingen illustreren duidelijk niet enkel de gekende verschillen tussen commercieel beschikbare CMV IgG aviditeitstesten maar ook het **gevaar voor timing van maternele CMV infectie enkel op CMV IgG**

aviditeitswaarde: gebruik van specifieke CMV IgM testen naast interpretatie van een globaal serologisch profiel dienen nagestreefd te worden. In tegenstelling met de vorige casus, is de **bepaling van CMV IgG aviditeit hier, in de context van de beginnende zwangerschap, aan te raden voor onderscheid tussen primaire en secundaire CMV infectie** wat een sterk verschillend risico op CMV transmissie van moeder op foetus met zich brengt. Methoden voor het opsporen van het virus zelf of virale componenten (urinekweek, Ag-detectie, PCR) zijn hier niet aan te raden gezien er geen onderscheid tussen primaire en secundaire infecties mogelijk is en geen prognostische waarde naar risico op foetale infectie.

EBV

Er werden 2 stalen rondgestuurd voor EBV -serologie.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

S/4173: Een studente van 19 jaar heeft last van rillingen, lichte koorts, hoofdpijn, gebrek aan eetlust en uitgesproken vermoeidheid. Ze meldt zich bij de huisarts waar een bloedafname verricht wordt.

IS/11220: Eén week later meldt haar vriendje zich eveneens bij zijn huisarts met nagenoeg dezelfde klachten. Ook bij hem wordt een bloedafname verricht.

De verwachte resultaten waren:

S/4173: Heterofiele AS: negatief
IgG (totaal, VCA, EBNA): positief
IgM (totaal, VCA): negatief
Interpretatie: Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie

IS/11220: Heterofiele AS: negatief
IgG (totaal, VCA, EBNA): positief
IgM (totaal, VCA): negatief
Interpretatie: Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie

147 klinische laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug.

Ze voerden op beide stalen 464 testen uit (94 heterofiele As, 9 totale IgG, 10 totale IgM, 95 VCA IgG, 25 VCA-EA IgG, 133 VCA IgM, 88 EBNA IgG, 8 EA IgG en 2 EA IgM).

Een overzicht van het aantal en type bepalingen per laboratorium wordt in tabel S4 weergegeven

Tabel S4 Verdeling van de uitgevoerde testen per laboratorium voor EBV (2013/3)

Aantal testen	Parameter	S/4173	IS/11220
1 test	Heterofiele AS	4	4
2 testen	VCA IgG + VCA IgM	17	17
	VCA-EA IgG + VCA IgM	4	4
	EBNA IgG + VCA IgM	2	2
3 testen	Heterofiele AS + VCA IgG + VCA IgM	23	23
	Heterofiele AS + VCA-EA IgG + VCA IgM	5	5
	Heterofiele AS + Totale IgG + Totale IgM	5	5
	Heterofiele AS + EBNA IgG + VCA IgM	11	11
	Heterofiele AS + EBNA IgG + Totale IgM	1	1
	Heterofiele AS + EBNA IgG + EA IgM	1	1
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	17	17
	VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	10	10
	Totale IgG + Totale IgM + EBNA IgG	1	1
4 testen	Heterofiele AS + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	29	29
	Heterofiele AS + VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	6	6
	Heterofiele AS + Totale IgG + Totale IgM + EBNA IgG	2	2
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	2	2
5 testen	Heterofiele AS + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	5	5
	Heterofiele AS + VCA IgG + VCA IgM + Totale IgG + Totale IgM	1	1
6 testen	Heterofiele AS + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG+ EA IgM	1	1
Total		147	147

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- Heterofiele As: Clearview IM (Alere Health) (68.1% beide stalen)
- Totale IgG: Enzygnost anti-EBV IgG (Siemens) (100%, beide stalen)
- VCA-EA IgG: VIDAS EBV VCA-EA IgG (bioMérieux) (100%, beide stalen)
- VCA IgG: Liaison VCA IgG (DiaSorin) (54.7% beide stalen) en Immulite EBV VCA IgG (Siemens) (13.7% en 12.6%)
- EBNA IgG: Liaison EBNA IgG (DiaSorin) (40.9% en 39.8%) en VIDAS EBV EBNA IgG (bioMérieux) (26.1% en 25%)
- EA IgG: Liaison EA IgG (DiaSorin) (62.5% beide stalen)
- Totale IgM: Enzygnost anti-EBV IgM II (Siemens) (100%, beide stalen) VCA IgM: Liaison EBV IgM (DiaSorin) (42.9% beide stalen), VIDAS EBV VCA IgM (bioMérieux) (21.8% beide stalen) en Immulite EBV VCA IgM Elisa (Siemens) (11.3% beide stalen)

S/4173

93 laboratoria bekwamen een negatief resultaat en één laboratorium een positief resultaat voor de heterofiele As.

Alle resultaten voor de totale IgG, VCA-EA IgG en EBNA IgG waren positief. Voor de VCA IgG vonden 93 laboratoria een positief resultaat, één laboratorium een borderline en één een negatief. De resultaten voor de EA-IgG waren allen negatief.

Alle resultaten voor de IgM, ongeacht de aard van deze IgM, waren negatief.

96.6% van de laboratoria gaven de correcte interpretatie "Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie". Drie laboratoria (die enkel de heterofiele As bepaalden) verwezen naar de noodzaak om bijkomende EBV-serologie uit te voeren om een correcte interpretatie te geven. Eén laboratorium gaf de interpretatie "Serologie suggestief voor een EBV primoinfectie; een bevestiging is nodig door: bijkomende testen (PT, leukocytaire formule) + een nieuwe staalafname"; en 1 laboratorium (dat enkel de heterofiele As bepaalde) vermeldde "Negatieve EBV serologie".

S/11220

93 laboratoria bekwamen een negatief resultaat en één laboratorium een positief resultaat (hetzelfde als voor S/4173) voor de heterofiele As.

Alle resultaten voor de totale IgG, VCA-EA IgG en EBNA IgG waren positief. Voor de VCA IgG vonden 94 laboratoria een positief resultaat en één laboratorium een negatief. De resultaten voor de EA-IgG waren allen negatief.

Voor de totale IgM bekwamen 9 laboratoria een negatief resultaat en één een positief resultaat. Voor de VCA IgM bekwamen 132 laboratoria een negatief resultaat en één een positief resultaat. Voor de EA IgM bekwamen alle laboratoria een negatief resultaat.

96.6% van de laboratoria gaven de correcte interpretatie "Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie". Drie laboratoria (die enkel de heterofiele As bepaalden) verwezen naar de noodzaak om bijkomende EBV-serologie uit te voeren om een correcte interpretatie te geven. Eén laboratorium gaf de interpretatie "Serologie suggestief voor een EBV primoinfectie; een bevestiging is nodig door: bijkomende testen (PT, leukocytaire formule) + een nieuwe staalafname"; en 1 laboratorium (dat enkel de heterofiele As bepaalde) vermeldde "Negatieve EBV serologie".

Het commentaar op de enquête vermeldde dat de verwachte interpretatie bij beide stalen "serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie" door de overgrote meerderheid correct geantwoord werd. Er kunnen wel een paar opmerkingen gemaakt worden.

Eén laboratorium dat enkel heterofiele antilichamen bepaalde, gaf als interpretatie "negatieve EBV serologie". Een dergelijke interpretatie op basis van de bepaling van heterofiele antilichamen alleen is natuurlijk niet correct. **Aanwezigheid van heterofiele** antistoffen, indien aangevraagd in de gepaste klinische setting, heeft een "**vrij**" **goede specificiteit voor een acute EBV infectie**. De **gevoeligheid** daarentegen is **bij kinderen eerder laag**, maar ook bij adolescenten en volwassenen (zeker bij ouderen) is de sensitiviteit niet 100%. Vals

positieve heterofiele antistoffen kunnen teruggevonden worden bij patiënten met leukemie, lymfoom, Rubella infectie,... Verder geven **heterofiele antistoffen geen informatie over een vroeger doorgemaakte infectie.**

Eén laboratorium gaf de interpretatie “serologie suggestief voor een EBV primo infectie” aan, ondanks correcte analytische resultaten (pos EBNA IgG en VCA IgG en negatieve VCA IgM en heterofiele As). Een EBV primo-infectie wordt gekenmerkt door het vroeg verschijnen van anti-VCA IgM. Wanneer de anti-VCA-IgG verschijnen, nemen de anti-VCA IgM af tot volledige verdwijning. De anti-VCA-IgG blijven in immuuncompetente personen levenslang aanwezig. EBNA-1 IgG antilichamen verschijnen meestal 6 tot 12 weken na het begin van de symptomen en blijven ook levenslang aanwezig. De aanwezigheid van EBNA-1 antilichamen sluit een recente primaire infectie definitief uit. Maar niet alle individuen produceren EBNA-1 IgG en bovendien kunnen EBNA-1 IgG opnieuw verloren gaan.

Een **voorbije EBV-infectie** wordt dus **gekenmerkt door de afwezigheid van anti-VCA IgM en de aanwezigheid van IgG tegen zowel VCA als EBNA.**

HIV

Er werden 2 “klaar-voor-gebruik” stalen (IS/12462 en IS/12495) verstuurd voor de bepaling van HIV-antistoffen.

Staal IS/12462 was het supernatans van een viruskweek die in NHP (negatief humaan plasma) was verdund, er waren geen antistoffen aanwezig. Dit staal was dus reactief met de 4^e generatie testen maar kon niet gedetecteerd worden met de 3^e generatie testen.

Staal IS/12495 was negatief.

Aan deze enquête namen 164 Belgische en Luxemburgse laboratoria deel.

Op staal S/12462 voerden de laboratoria 188 screeningstesten uit en op staal IS/12495 voerden ze 178 screeningstesten uit.

Tabel S5 geeft de verdeling per kitgeneratie.

Tabel S5 Verdeling per generatie van de kits gebruikt voor de bepaling van HIV.

N testen	Generatie	IS/12462 (N labo's)	IS/12495 (N labo's)
1 test			
	3 ^e gen.	17	17
	4 ^e gen.	124	134
2 testen			
	3 ^e + 4 ^e gen.	4	3
	4 ^e + 4 ^e gen.	18	9
3 testen			
	3 ^e + 4 ^e + 4 ^e gen.	1	1
Totaal		164	164

Voor IS/12642 werden dus 166 4^e generatie en 22 3^e generatie kits gebruikt en voor IS/12495 157 4^e generatie en 21 3^e generatie kits.

De meest gebruikte reagentia waren Architect HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (27.4% beide stalen), HIV Combi PT (Roche) (23.9% beide stalen), VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) (12.2% en 9.1%) en VITROS Immunodiagnostic Products anti HIV 1+2 (Ortho Diagnostics) (7.9% beide stalen).

Volgende tabel geeft een overzicht van de resultaten die door de 164 laboratoria bekomen werden voor staal S/12642.

Tabel S6 Resultaten bekomen voor staal IS/12462 (HIV).

Resultaten	N labo's
Reactief	140
Reactief /negatief ¹	5
Borderline	1
Negatief	18
Totaal	164

¹ Vier laboratoria bekwamen een reactief resultaat voor hun 4^e generatie kit en een negatief voor hun 3^e generatie kit; en één laboratorium reactieve resultaten voor hun beide 4^e generatie kits en een negatief voor hun 3^e generatie kit.

Indien we de resultaten bekijken per kit, geeft dit 164 reactieve resultaten, één borderline en 23 negatieve.

Alle reactieve resultaten en het borderline resultaat werden bekomen met 4^e generatie kits.

22 negatieve resultaten werden bekomen met de 22 3^e generatie kits (13 VITROS Immunodiagnostic Products anti HIV 1+2, 6 ADVIA Centaur EHIV, 1 Determine HIV-1/2, 1 Genscreen HIV 1/2 Version 2 en 1 PRISM HIV 0 Plus). Eén laboratorium rapporteerde wel een negatief resultaat voor een 4^e generatie kit doch dit labo heeft beide stalen verwisseld (het antwoordde een reactief resultaat voor staal IS/12495).

Voor staal IS/12495 bekwamen 162 laboratoria een negatief resultaat met de screeningstesten (laboratoria die 2 technieken gebruikten bekwamen een negatief resultaat met beide technieken), één laboratorium bekwam een borderline resultaat en één laboratorium rapporteerde een reactief resultaat (het labo dat vermoedelijk beide stalen verwisselde).

Het commentaar op de enquête benadrukte het belang van de 4^e generatiestesten. Momenteel ontvangen de AIDS referentielaboratoria meer en meer stalen die afgenomen werden in de **beginfase van de infectie**. Deze stalen worden **correct gedetecteerd door de 4^e generatietesten** maar de confirmatie van de antistoffen is negatief; meestal worden deze antistoffen positief bij een tweede staal. Deze gevallen kunnen enkel gedetecteerd worden door een test die tegelijkertijd antistoffen en antigen p24 opsporen (het voornaamste antigen voor HIV-1). Dit brengt ons ertoe om **het gebruik van deze testen sterk aan te bevelen**. Het is zeer belangrijk dat een patiënt en zijn geneesheer gerust gesteld kunnen worden door een negatieve test. Het gebruik van een 4^e generatietest vormt geen absolute zekerheid, want de gevoeligheid van de antigendetectie kan variëren tussen de testen, maar ze zijn in elk geval momenteel gevoeliger dan de 3^e generatietesten.

Tevens herhaalden de AIDS referentielaboratoria dat een patiënt slechts HIV-positief verklaard kan worden als dit aangetoond kan worden op 2 stalen van dezelfde patiënt, die onafhankelijk van elkaar afgenomen werden, dit wil zeggen niet op hetzelfde ogenblik.

EIND
