

WIV  
J. Wytsmanstraat, 14  
B-1050 BRUSSEL

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

DIENST LABORATORIA VOOR KLINISCHE BIOLOGIE  
COMITES VAN DESKUNDIGEN

## Globaal Rapport

### Externe Kwaliteitsevaluatie voor Analyses Klinische Biologie

### Microbiologie/Serologie/Parasitologie

ENQUETE 01/2006

#### Microbiologie (identificaties)

Leuconostoc citreum  
Pseudomonas aeruginosa  
Candida albicans + Candida glabrata  
Staphylococcus aureus

#### Parasitologie

Entamoeba histolytica  
Giardia lamblia  
Negatief staal

#### Serologie

Syfilis  
Borrelië  
Toxoplasma

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

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

## COMITE VAN EXPERTEN VOOR MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE

WIV-LP (secretariaat) : 02/642.55.22 - FAX : 02/642.56.45  
(Dr. K. Vernelen) : 02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45  
(Coördinator) : e-mail : kris.vernelen@iph.fgov.be  
Dr. BODEUS Monique : 02/764.67.31 - FAX : 02/764.69.33  
: e-mail : bodeus@mblg.ucl.ac.be  
Dr. CLAEYS Geert : 09/240.36.45 – FAX : 09/240.36.59  
: e-mail : geert.claeys@ugent.be  
Dr. CROKAERT Françoise : 02/541.37.00 – FAX : 02/541.32.95  
: e-mail : fcrokaer@ulb.ac.be en nathalie.cardinal@bordet.be  
Dr. DE BEENHOUWER Hans : 053/72.42.72 – FAX : 053/72.45.88  
: e-mail : hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be  
Dr. DE GHELDRE Yves : 02/340.41.34 – FAX : 02/340.41.79  
: e-mail : yves.degheldre@chirec.be  
Dr. DEDISTE Anne : 02/535.45.42  
: e-mail : anne\_dediste@stpierre-bru.be  
Dr. DELFORGE Marie-Luce : 02/555.34.53 – FAX : 02/555.64.59  
: e-mail : mdelforg@ulb.ac.be  
Dr. HAYETTE Marie-Pierre : 043/66.24.54 – FAX : 043/66.24.40  
: e-mail : mphayette@chu.ulg.ac.be  
Dr. LAGROU Katrien : 016/34.70.98 – FAX : 016/34.79.31  
: e-mail : katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be  
Apr. LONTIE Marc : 016/31.01.72 – FAX : 016/31.01.88  
: e-mail : marc.lontie@mchlvwo.be  
Dr. LUYASU Victor : 010/43.73.30 - FAX : 010/43.71.88  
: e-mail : victor.luyasu@skynet.be  
Dr. MAGERMAN Koen : 011/30.97.40 – FAX : 011/30.97.50  
: e-mail : koen.magerman@virgajesse.be  
Dr. NAESSENS Anne : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15  
: e-mail : anne.naessens@az.vub.ac.be  
Dr. VAN ESBROECK Marjan : 03/247.64.37 – FAX : 03/247.64.40  
: e-mail : mvesbroeck@itg.be  
Dr. VERHAEGEN Jan : 016/34.70.73 – FAX : 016/34.79.31  
: e-mail : jan.verhaegen@uz.kuleuven.ac.be  
Dr. WOESTYN Sophie : 056/85.58.85 – FAX : 056/85.58.86  
: e-mail : sophie.woestyn@scarlet.be

## I. ALGEMENE BEMERKINGEN

Voor de 1de evaluatie van het jaar 2006 (enquête 2006/1) werd volgend materiaal verzonden op 16 januari 2006.

1.1. Vier gelyofiliseerde monsters voor identificatie.

Voor 2 monsters werden de resultaten van de gevoeligheidstesten gevraagd.

1.2. Twee fecessuspensies in formol voor parasitologisch onderzoek.

1.3. Twee plasmamonsters voor het opsporen van antistoffen tegen syfilis, Borrelia en Toxoplasma

### AANTAL DEELNEMERS

Het aantal evalueerbare antwoordbulletins bedroeg :

1.	Voor identificatie en antibiogram	: 193
2.	Voor de parasitologie	: 188
3.	Voor de serologie	
	Syfilis	: 181
	Borrelia	: 142
	Toxoplasma	: 178

Wij danken Mr. Marc Lontie (parasitologie) en Dr Bernard Bouffioux (serologie) voor het ter beschikking stellen van de fotos in dit globaal rapport.

## II. IDENTIFICATIES

### 2.1. Cultuur M/6384 was een *Leuconostoc citreum*.

*Leuconostoc species* behoren tot de melkzuurbacteriën. Ze zijn acidofiel en acidurisch (produceren zuur). Ze zijn aanwezig in de natuur, en men kan ze aantreffen op en in allerlei voedsel van plantaardige of dierlijke oorsprong. Samen met andere melkzuurbacteriën bereiken ze dense concentraties, en de metabole eindproducten zorgen voor verzuring, bescherming tegen bacteriën die bederf veroorzaken, en zorgen zelfs (bewust of onbewust) voor smaakverbetering door aanmaak van aromatische moleculen. Zo zal men deze soorten vinden in zuurkool, charcuterie, kazen,...

*Leuconostoc* soorten zijn zoals verwante bacteriën resistent aan vancomycine, en in een omgeving waar vancomycine wordt gebruikt, krijgen ze dus een selectief voordeel. Daardoor veroorzaken ze, als tertiaire 'invader' af en toe een infectie bij een verzwakte persoon, met allerlei debilerende factoren en na verschillende behandelingen met antibiotica.

#### Infecties

Weinig pathogeen, het kleine aantal beschreven infecties vindt men dan ook bij patiënten met verminderde weerstand, waarbij de endogene microflora sterk is verstoord door antibiotica.

#### Kweek en identificatie

*Leuconostoc spp.* groeien gemakkelijk maar zijn in het medisch-diagnostisch labo een 'moeilijke' groep bacteriën. Ze zijn grampositief, katalase-negatief, maar zowel qua morfologie als qua fysiologische kenmerken lijken ze op streptokokken, laktobacillen, *Pediococcus spp.*,...

Met het vaststellen van resistentie aan vancomycine komen we al wat dichterbij de buurt van een juiste identificatie. Voor wie klassieke technieken gebruikt voor dergelijke bacteriën verwijzen we naar klassieke handboeken (zie literatuurlijst).

Gelukkig en toevallig kon deze stam op naam gebracht worden met commerciële identificatiesystemen, wat vermoedelijk het goede resultaat van de meeste labs verklaart. De identificatie tot op species niveau voor deze stam werd ook bevestigd met moleculaire technieken.

#### Antibiogram

Voor het testen van de gevoeligheid voor antibiotica, zitten we wat *Leuconostoc* betreft en andere uitzonderlijke bacteriën in vele gevallen zonder gevalideerde standaard technieken. In een artikel van Swenson, Facklam en Thornsberry uit 1990 (zie referentie lijst) werd een micro-dilutie techniek gebruikt voor het testen van een reeks isolaten. In het zelfde artikel werd ook een disk diffusie antibiogram uitgevoerd met MH en 5% schapebloed: slechts een zeer klein aantal major en very major errors werd vastgesteld maar het aantal minor errors bedroeg 20%.

In hetzelfde artikel kan men lezen dat er bij een reeks geteste *Leuconostoc* stammen (43 stammen) een complete resistentie was voor vancomycine en teicoplanine, dat er geen resistentie was voor imipenem, minocycline, chloramfenicol, gentamicine en daptomycine (en erytromycine), dat ze matig gevoelig waren voor penicilline, en dat de

gevoeligheid voor andere antibiotica (1<sup>ste</sup>, 2<sup>de</sup> en 3<sup>de</sup> generatie cefalosporines) wisselend was.

### **Besluit.**

In de praktijk, en geïllustreerd door het klinisch verhaal, zal men voor een diep isolaat, waarvan men denkt dat het een viridans-streptokok is, en zeker bij een hematologische patiënt, een klassiek antibiogram uitvoeren en, in huidig geval, verwonderd vaststellen dat deze vancomycine resistent is. De correcte identificatie kan problematisch zijn, maar voor deze stam brachten commerciële systemen gelukkig (misschien toevallig) een juiste identificatie (op genus niveau).

G. Claeys, UZ, Gent

## REFERENTIES

Carr FJ, D Chill, N Maida. The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4):281-370 (2002)

KL. Ruoff. *Aerococcus*, *abiotrophia*, and other infrequently isolated aerobic catalase-negative, gram-positive cocci. In : *Manual of Clinical Microbiology* 8<sup>th</sup> Edition PR Murray, EJ Baron, JH Jorgensen, MA Pfaller, RH Tenenbaum. ASM Press Washington DC. 2003.

Swenson JM, RR Facklam, C Thornsberry. Antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant *Leuconostoc*, *Pediococcus* and *Lactobacillus* species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 34, 543-49, 1990.

## 2.2. Cultuur M/6437 was een *P. aeruginosa*.

Deze stam stelde geen problemen voor wat betreft de identificatie en werd door een grote meerderheid van de laboratoria correct geïdentificeerd. De rondgestuurde stam vertoonde de karakteristieke fenotypische kenmerken zoals positieve oxydasereactie, productie van pyocyanine en pyoverdine, groei op 42°C, positieve nitraatreductie met vorming van stikstofgas. Deze stam werd geïsoleerd uit het bronchusaspiraats van een patiënt met een nosocomiale pneumonie. Volgens recente surveillance studies is *Pseudomonas aeruginosa* verantwoordelijk voor 10% van de nosocomiale infecties (1). Dergelijke infecties kunnen levensbedreigend zijn en de behandeling verloopt dikwijls moeizaam omwille van de beperkte gevoeligheid voor antibiotica. Een recente studie uit Israël vermeldt als voorname risicofactoren: verblijf op een afdeling voor intensieve zorgen, gebruik van invasieve technieken en behandeling met breed spectrum cefalosporines en aminoglycosiden (2).

De opgestuurde stam was resistent tegen al de in routine beschikbare antibiotica. Op Mueller Hinton agar werden met E-tests de volgende MIC waarden bekomen.

	Mg/L	Interpretatie CLSI
Piperacilline-tazobactam	>256	R
Ceftazidime	192	R
Meropenem	>32	R
Cefepime	>32	R
Tobramycine	>256	R
Amikacine	24	I
Ofloxacin	>32	R
Ciprofloxacin	>32	R
Colistine	1	S

Op een bondige wijze wordt in de volgende paragrafen een overzicht gegeven van de verschillende resistentiemechanismen die bij *Pseudomonas aeruginosa* worden vastgesteld.

### 1. Resistentie tegen $\beta$ -lactam antibiotica

Er bestaat natuurlijke resistentie tegen aminopenicillines (al dan niet met  $\beta$ -lactamase inhibitor), eerste en tweede generatie cefalosporines. Verworven resistentie kan berusten op  $\beta$ -lactamase productie, efflux of porine deficiëntie. Afhankelijk van het geproduceerde enzyme kan men verschillende resistentiepatronen bekomen.

	Ticarcilline	Piperacilline-Tazobactam	Ceftazidime	Meropenem
Plasmides-Penicillinasen	R	S	S	S
ESBL	R	wisselend	R	S
Constitutieve Cefalosporinase	R	R	R	S
Metallo- $\beta$ -lactamase	wisselend	wisselend	wisselend	R

In tegenstelling met de  $\beta$ -lactamase die per definitie uitsluitend  $\beta$ -lactam antibiotica neutraliseren, leidt efflux meestal tot gecombineerde multiresistentie. Deze efflux mechanismen zijn meestal chromosomaal gemedieerd en kunnen onderverdeeld worden in vijf klassen (3).

Voor de «resistance-nodulation-family» wordt frequent gevonden bij Gramnegatieven.

Deze efflux mechanismen bestaan uit drie componenten: de eigenlijke pomp in het cytoplasmatisch membraan die via een lipoproteïne uit de periplasmatische ruimte (MFD membrane fusion protein) in verbinding staat met een proteïne in de buitenmembraan (OMF outer membrane factor).

Verlies van de oprD porines is herhaaldelijk beschreven als oorzaak van resistentie tegen carbapenems.

## 2. Resistentie tegen aminoglycosiden

Resistentie tegen aminoglycosiden kan berusten op één of een combinatie van de volgende resistentiemechanismen: enzymatische inactivatie door de productie van aminoglycoside - modifiërende enzymen, efflux mechanisme of impermeabiliteit van de buitenmembraan door het afsluiten van de porines. Het fenotype van de rondgestuurde *P. aeruginosa* is compatibel met de aanwezigheid van AAC(6') + ANT(2'')-I als aminoglycoside inactiverende enzymen, maar ook impermeabiliteit van het buitenmembraan behoort tot de mogelijkheden.

## 3. Resistentie tegen fluorochinolones

Ook hier zijn drie verschillende resistentiemechanismen mogelijk: impermeabiliteit van het buitenmembraan door verlies van porines of verandering van de lipopolysachariden, wijziging van het DNA gyrase en tenslotte actieve efflux.

In een multicenter studie werden enkele jaren geleden 716 stammen uit 40 Belgische ziekenhuislaboratoria in vitro getest. Al deze stammen waren verantwoordelijk voor nosocomiale infecties. Ze werden getest tegen de volgende antibiotica met het percentage gevoelige stammen tussen haakjes vermeld: ofloxacine (49.5), levofloxacine (61.5), ciprofloxacine (71), gentamicine (67), tobramycine (79.5), amikacine (85), aztreonam (17.75), piperacilline (76), piperacilline-tazobactam (83), ceftazidime (59), cefepime (50.5), en meropenem (81.5) (4).

Wanneer een *P. aeruginosa* met resistentie tegen de beschikbare  $\beta$ -lactam antibiotica, aminoglycosiden en fluorochinolones geïsoleerd wordt uit een nosocomiale infectie lokalisatie kunnen polymyxines soms een uitweg bieden voor de behandeling. Polymyxines zijn cyclische polypeptiden, ontdekt in 1949, waarvan het polymyxine B en E (= colistine) voor klinische toepassingen bij de mens kunnen gebruikt worden. Tot voor kort kende colistine vooral een topisch gebruik (collyria, aërosol bv bij mucoviscidose patiënten,...) en orale toepassingen (selectieve darmdecontaminatie, ...). Recente ervaringen met de parenterale toediening hebben aangetoond dat colistine ook een behoorlijke klinische effectiviteit heeft met geringere nefro- en neurotoxiciteit in vergelijking met de gegevens uit oude rapporteringen. De klassieke dosering is 4 - 6 mg/kg/d (50 000 - 75 000 IU/kg/d) in drie giften. Dosis aanpassing is noodzakelijk bij nierinsufficiëntie. (5).

De CLSI geeft geen informatie over colistine. Ondanks zijn beperkingen wordt in de meeste laboratoria de disk-diffusie techniek gebruikt. Men heeft de keuze tussen papieren schijfjes met een lading van 10  $\mu$ g colistine sulfaat en ROSCO Neosensitabs met een lading van 150  $\mu$ g. Een inhibitiezone van  $\geq 11$  mm en  $\geq 20$  mm respectievelijk voor papieren schijfjes en Neosensitabs correspondeert met gevoeligheid. Enkele auteurs raden aan het resultaat van de disk-diffusie test te confirmeren met een diluatiemethode, omdat resultaten van valse gevoeligheid met de disk-diffusie techniek kunnen optreden (ongeveer 3.5%) (6). Stammen met een MIC van  $\leq 4$  mg/L zijn gevoelig.

Jan Verhaegen, UZ Leuven



## REFERENTIES

1. NNIS. National Nosocomial infections surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am. J. Infect. Control* 2004, 32;470-485.
2. V. Aloush, S. Navon-Venezia, Y. Seigman-Igra, S. Cabili, en Y. Carmeli. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* : Risk factors and clinical impact. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Jan. 2006, 50;43-48
3. K. Poole. Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004, 10;12-26.
4. J. Van Eldere. Multicentre surveillance of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility patterns in nosocomial infections. *J. Antimicrob. Chemother.* 2003, 51;347-352.
5. M. E. Falagas et al. Colistin : the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin. Infect. Diseases* 2005, 40 ;1333-1341.
6. A. C. Gales et al. Contemporary assessment of antibiogram susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin : review of available interpretative criteria and quality control guidelines. *J. Clin. Microbiol.*, Jan. 2001, 39;183-190.

### 2.3. Cultuur M/6576 *Candida albicans* + *Candida glabrata*

In dit staal waren twee verschillende *Candida* species aanwezig, namelijk *Candida albicans* en *Candida glabrata*. Ongeveer driekwart van de deelnemers waren in staat om dit mengsel te detecteren en beide species correct te identificeren. Het herkennen van een mengcultuur van gisten op een Sabouraud agar of een bloedplaat aan de hand van koloniemorfologie is niet steeds eenvoudig. Ook het microscopisch herkennen van de aanwezigheid van verschillende *Candida* species (bijvoorbeeld bij uitvoering van de kiembuistest) is niet steeds mogelijk. *C. glabrata* kan microscopisch onderscheiden worden van *C. albicans* door de kleinere afmetingen van deze gist alsook door de afwezigheid van (pseudo)hyfae. De moeilijkheidsgraad van het herkennen van verschillende gisten in een mengcultuur blijkt ook uit deze enquête: 20% van de deelnemers antwoordden slechts één *Candida* species. Een belangrijk hulpmiddel voor de detectie van een mengcultuur van gisten zijn de chromogene media. Dergelijke agarbodems bevatten chromogene substraten die als gevolg van species specifieke enzymactiviteit aanleiding geven tot kolonies met een verschillende kleur bij aanwezigheid van verschillende species. Op basis van de koloniekleur en morfologie is het tevens mogelijk om een aantal species te identificeren. Het is wel belangrijk om in de literatuur te verifiëren welke species op een voldoende betrouwbare manier kunnen geïdentificeerd worden met een bepaald chromogeen medium. De firma's stellen meestal kleurenkaarten ter beschikking waarop talrijke *Candida* species afgebeeld staan met hun eigen kleur en koloniemorfologie. Uit studies blijkt dat het aantal species dat louter op basis van het macroscopische aspect op een chromogene agar correct kan worden geïdentificeerd beperkt is (1). Voordelen van de chromogene media zijn dus de eenvoudige herkenning van mengculturen alsook de identificatie van een aantal *Candida* species direct op het primair isolatie medium. Een nadeel van de chromogene media is hun kostprijs die beduidend hoger ligt dan voor een Sabouraud agar. Ook dient er geverifieerd te worden of de kolonies van een chromogene agar rechtstreeks kunnen gebruikt worden voor verdere biochemische identificatie en eventuele gevoeligheidsbepaling. Een overentingsstap op een Sabouraud agar kan noodzakelijk blijken.

Een correctie identificatie van gisten geïsoleerd uit een normaal steriel staal tot op species niveau is belangrijk omdat de speciesidentificatie in belangrijke mate bijdraagt tot de therapiekeuze. Identificatie van gisten uit een bloedkweek als *Candida non-albicans* of *Candida* species is dan ook niet-accepteerbaar. Gevoeligheidsbepaling van gisten aan antifungale middelen is niet algemeen beschikbaar en is ook maar in beperkte mate geïndiceerd aangezien bepaalde *Candida* species karakteristieke gevoeligheidspatronen vertonen. *Candida krusei* is intrinsiek resistent tegen fluconazol. *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* en *Candida tropicalis* daarentegen zijn nog steeds bijna uniform gevoelig aan fluconazol. De meerderheid van de *Candida glabrata* isolaten behoren tot de 'susceptible dose dependent' klasse zodat het belangrijk is om een voldoende hoge dosis van fluconazol toe te dienen. Laboratoria die zelf geen fungigram uitvoeren, kunnen hun stammen, in geval er een indicatie is voor het uitvoeren hiervan, steeds doorsturen naar een referentiecentrum.

K. Lagrou, UZ, Leuven

## **REFERENTIES**

1. Freydiere AM, Guinet R, Boiron P. Yeast identification in the clinical microbiology laboratory: phenotypical methods. *Med Mycol* 2001, 39: 9-33.

## 2.4. Cultuur M/6613 (*S. aureus*)

Aantal deelnemers = 193

Deze kiem werd geïsoleerd bij een patiënt van 10 jaar, die sinds enkele dagen een wonde aan zijn hand vertoonde.

Alle laboratoria hebben de stam correct geïdentificeerd. Fenotypisch vertoonde hij het typische speciesprofiel.

Het antibiogram werd met verschillende methoden bepaald waarbij de resultaten tussen de laboratoria verschilden voor oxacilline, de aminoglycosiden, de macroliden-lincosamiden-streptograminen (MLS), fusidinezuur en vancomycine. Sommige laboratoria hebben niet voor alle antibiotica de gevoeligheid bepaald.

De correcte bepaling van de oxacilline-gevoeligheid is onontbeerlijk om de clinicus te begeleiden in zijn therapiekeuze. De resistentie tegen oxacilline is gebonden aan het verwerven van een «Penicillin Binding Protein» (PBP2a) met een geringe affiniteit voor de  $\beta$ -lactams. De synthese van het PBP2a wordt gecodeerd door het *mecA* gen, dat geïntegreerd is in een bijkomend element van het chromosoom van de stafylokok dat Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (*SCCmec*) genoemd wordt en waarvan de grootte varieert tussen 21 en 60 kb. Het verwerven van het PBP2a veroorzaakt een kruisresistentie tegen alle  $\beta$ -lactams. De fenotypische expressie van deze resistentie is variabel. De resistentie kan op 2 manieren tot uiting komen: een homogene manier, waarbij de hele populatie de resistentie tot expressie brengt, of een heterogene manier, waarbij slechts een deel van de populatie (1 bacterie op  $10^4$  tot  $10^7$ ) de resistentie tot expressie brengt. De detectie van deze oxacilline-heteroresistente stammen kan het laboratorium voor problemen stellen.

Zoals bleek uit de resultaten van het referentiecentrum, vertoonde de stam van de EKE een heterogene oxacillineresistentie (MIC = 4 mg/l). Deze resistentie werd bevestigd door een positieve anti-PBP2a latexagglutinatie (MRSA-screen Denka-Seiken, Japan) en door de aanwezigheid van het *mecA* gen, die met PCR aangetoond werd (1).

Slecht 82% (n = 159) van de laboratoria hebben het lage resistentieniveau tegen oxacilline correct vastgesteld. 24 (16%) laboratoria hebben de stam als gevoelig geantwoord (zeer ernstige fout) en 5 hebben geen resultaat verstrekt voor methicilline. 20% van de gebruikers van de Vitek2 of ATB systemen hebben de stam als gevoelig voor oxacilline geantwoord. Alle gebruikers van het Phoenix systeem daarentegen hebben de stam correct resistent tegen oxacilline geantwoord. Dit verschil in performantie tussen beide systemen is in hoofdzaak te wijten aan het feit dat de antibiogramkaart voor Stafylokokken van het Phoenix toestel cefoxitine gebruikt voor het bepalen van de gevoeligheid voor methicilline. BioMérieux zal in de loop van dit jaar een nieuwe kaart voor Stafylokokken voor Vitek2 op de markt brengen, die cefoxitine bevat. 12 à 17% van de laboratoria die methicilline getest hebben met papieren of Rosco schijfjes, hebben de stam gevoelig geantwoord (zeer ernstige fout). De resultaten van deze enquête tonen geen significant verschil tussen de gebruikers van oxacilline- en cefoxitineschijfjes.

In 2006, geeft de CLSI (de vroegere NCCLS) de aanbeveling de gevoeligheid voor oxacilline te testen aan de hand van een cefoxitineschijfje van 30  $\mu$ g of van een oxacillineschijfje van 1  $\mu$ g op een Mueller-Hinton (MH) agar, waar geen NaCl aan toegevoegd wordt, en die gedurende 24 uur op 35°C ( $\pm$  2°C) geïncubeerd wordt (2). Het gebruik van een cefoxitineschijfje is gevoeliger voor het detecteren van

heteroresistente *S. aureus* stammen (3). Stammen die een diameter kleiner dan 20 mm vertonen voor cefoxitine zijn resistent. We dienen op te merken dat de Société Française de Microbiologie, voor dezelfde testomstandigheden, andere kritische diameters aanbeveelt (4). Stammen die een diameter kleiner dan 25 mm vertonen voor cefoxitine zijn resistent. Stammen die een diameter groter dan of gelijk aan 27 mm vertonen, zijn gevoelig. Deze stammen, en zeker deze die een diameter tussen deze beide grenzen vertonen, kunnen eveneens bevestigd worden door de detectie van het PBP2a met een latexagglutinatie of door PCR voor de bepaling van het *mecA* gen (2, 5).

De gevoeligheid voor de chinolonen, voor de macroliden-lincosamiden-streptograminen (MLS) en voor de aminoglycosiden werd door de grote meerderheid van de laboratoria (>95%) correct geantwoord. De resistentie tegen fusidinezuur werd correct geantwoord door de meerderheid van de laboratoria die dit antibioticum getest hebben. Enkele laboratoria hebben geantwoord dat de stam resistent is tegen vancomycine (ernstige fout). De resistentie tegen de glycopeptiden en meer bepaald tegen vancomycine blijft uitzonderlijk (<1%) en moet bevestigd worden door een referentielaboratorium. Het is belangrijk om te noteren dat de CLSI dit jaar de kritische concentratie voor vancomycine gewijzigd heeft ( $S \leq 2 \mu\text{g/ml}$  en  $R \geq 16 \mu\text{g/ml}$ ) (2).

Deze stam vertoont een bijzonder antibiogram. De MRSA stammen, die in onze hospitalen geïsoleerd worden, zijn inderdaad meestal resistent tegen de chinolones, (98%), tegen tobramycine (44%) en kanamycine (38%), tegen de macroliden (59%) en de lincosamiden (39%) (6). Resistentie tegen fusidinezuur wordt daarentegen slechts zelden waargenomen (1%) (6). Stam M/6613 is resistent tegen fusidinezuur. Dit resistentieprofiel, gevoeligheid voor chinolones en resistentie tegen fusidinezuur, tetracycline of kanamycine is typisch voor community-acquired MRSA stammen in Europa.

Sinds 10 jaar worden in Australië, de Verenigde Staten en Europa MRSA-infecties gerapporteerd bij jonge patiënten, die niet de gebruikelijke risicofactoren voor het verwerven van MRSA vertonen (7). Deze Community Acquired Methicillin-Resistant *S. aureus* (CA-MRSA) worden vaak aangetroffen bij infecties van huid en weke delen, en zeldzamer bij osteo-artritis of letale necrotiserende pneumonieën. Deze hypervirulente stammen produceren een exotoxine, het Panton-Valentin leukocidine (PVL) dat een ernstige weefselnecrose veroorzaakt met lyse van de witte bloedcellen. Dit enzyme wordt zelden geïsoleerd bij *S. aureus* (<2%), tenzij bij CA-MRSA stammen.

De meerderheid van de PVL-positieve CA-MRSA stammen behoren tot epidemische klonen die verschillen van dezen die in onze hospitalen circuleren (8). Het resistentieprofiel van de CA-MRSA verschilt over het algemeen van dit van de nosocomiale MRSA. De voornaamste epidemische MRSA kloon in Europa, ST-80-SCC*mec* IV, is gewoonlijk resistent tegen kanamycine, tetracycline en fusidinezuur en gevoelig voor ciprofloxacine en de macroliden-lincosamiden-streptograminen (MLS) (8). De andere CA-MRSA klonen zijn gewoonlijk gevoelig voor andere antibiotica dan de  $\beta$ -lactams met uitzondering voor de macroliden. In België werden deze stammen recent vooral gerapporteerd bij infecties van huid of weke delen.

Om de evolutie van de CA-MRSA infecties te kunnen volgen en de verspreiding ervan te beperken, is het aangewezen alle verdachte stammen te bevestigen. Het voorkomen bij een jonge patiënt zonder risicofactoren van een MRSA met een typisch resistentiepatroon suggereert de aanwezigheid van een PVL-positieve CA-MRSA. De bevestiging en de typering kunnen gebeuren in het Stafylokokken referentiecentrum, dat de surveillance van deze infecties in België uitvoert.

Olivier Denis, Claire Nonhoff et Marc J Struelens. Referentielaboratorium voor Stafylokokken en MRSA, Erasmusziekenhuis, Bacteriologie, Lenniksebaan 808, 1070 Brussel

Gelieve het formulier met klinische inlichtingen in te vullen wanneer u een stam naar het referentiecentrum verstuurd.

## REFERENTIES

1. Maes N, Magdalena J, Rottiers S, De Gheldre Y, Struelens MJ. Evaluation of a triplex polymerase chain reaction (PCR) assay to discriminate *Staphylococcus aureus* from coagulase negative staphylococci (CoNS) and determine methicillin resistance from blood cultures. *J.Clin.Microbiol.* 2002;40(4):1514-7.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifteenth informational supplement. Approved standard M7-A9. CLSI (formerly NCCLS), Wayne, Pa; 2005.
3. Nonhoff, C., Mascart, G., Struelens, M. J., Van Den Borre, C., and Denis, O. Detection of hetero-resistant MRSA: Controlled comparison of oxacillin/cefoxitin susceptibility testing by disk diffusion, agar screen, Vitek-2 and BD Phoenix automated systems. 114th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 1-4 May 2004, Prague, Czech Republic . 2006.
4. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Communiqué 2005.
5. Cauwelier B, Gordts B, Descheemaeker P, Van Landuyt H. Evaluation of a disk diffusion method with cefoxitin (30 microg) for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Eur.J Clin.Microbiol.Infect.Dis.* 2004;23(5):389-92.
6. Denis O, Deplano A, Nonhoff C, De Ryck R, de Mendonca R, Rottiers S et al. National surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Belgian hospitals indicates rapid diversification of epidemic clones. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2004;48(9):3625-9.
7. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg.Infect.Dis.* 2003;9(8):978-84.
8. Denis O, Deplano A, De Beenhouwer H, Hallin M, Huysmans G, Garrino MG et al. Polyclonal emergence and importation of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains harbouring Panton-Valentine leucocidin genes in Belgium. *J.Antimicrob.Chemother.* 2005;56(6):1103-6.

### III. RESULTATEN VAN DE IDENTIFICATIES (N=193)

De correcte of aanvaardbare resultaten zijn onderlijnd

#### 3.1. Cultuur M/6384 *Leuconostoc citreum* (hemocultuur)

<u><i>Leuconostoc species</i></u>	155	(80.3%)
<u><i>Leuconostoc citreum</i></u>	17	(8.8%)
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	3	
<i>Leuconostoc species</i> of <i>Lactococcus species</i>	1	
<i>Pediococcus species</i>	3	
<i>Aerococcus viridans</i>	2	
<i>Streptococcus species</i>	2	
Hemolytische <i>Streptococcus</i> groep F	1	
Niet groepeerbare <i>Streptococcus species</i> (vanco-R)	1	
<i>Streptococcus uberis</i>	1	
<i>Streptococcus (equinus) bovis</i>	1	
<i>Weisella species</i>	1	
<i>Enterococcus raffinosus</i>	1	
Gram positieve kok (doorstuur naar referentiecentrum)	1	
Staal doorgestuurd naar gespecialiseerd labo	1	
Geen antwoord	2	

#### 3.2. Cultuur M/6437 *Pseudomonas aeruginosa* (sputum)

<u><i>Pseudomonas aeruginosa</i></u>	192	(99.5%)
Geen antwoord	1	

#### 3.3. Cultuur M/6576 *Candida albicans* + *Candida glabrata* (hemocultuur)

<u><i>Candida albicans</i> + <i>Candida glabrata</i></u>	142	(73.6%)
<u><i>Candida albicans</i> + <i>Torulopsis glabrata</i></u>	2	(1.0%)
<i>Candida albicans</i> + <i>Candida non-albicans</i>	2	
<i>Candida albicans</i> + <i>Candida species</i>	1	
<i>Candida albicans</i> + 2e gist	1	
<i>Candida albicans</i> + <i>Candida krusei</i>	1	
<i>Candida albicans</i> + <i>Candida lusitaniae</i>	1	
<i>Candida albicans</i> + <i>Prototheca wickerhamii</i>	1	
<i>Candida albicans</i>	35	
<i>Candida albicans/dublinskiensis</i>	1	
<i>Candida albicans</i> groep	1	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1	
Andere gist dan <i>C. albicans</i> (doorstuur naar referentiecentrum)	1	
Staal doorgestuurd naar gespecialiseerd labo	1	
Geen antwoord	2	



### 3.4 Cultuur M/6613 *Staphylococcus aureus* (etter)

#### *Staphylococcus aureus*

193 (100%)

- 94 laboratoria vermelden expliciet MRSA waarvan 8 CA-MRSA
- 2 laboratoria vermelden BORSA
- 1 laboratorium vermeldt MSSA

## IV. ANTIBIOGRAM

Een algemeen overzicht van de resultaten per staal wordt gegeven bij het begin van de bespreking van ieder staal. In de verdere verwerking worden de resultaten geanalyseerd naargelang methode.

Het type antibiogram werd opgesteld door verschillende experten.

### 4.1 Cultuur M/6437 (*P. aeruginosa*)

Aantal deelnemers = 192

Niet alle deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor alle antibiotica. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor meer dan één chinolone. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid met meer dan 1 methode; meestal kwamen deze resultaten overeen; waar dit niet het geval was, werd er geopteerd om in onderstaande tabel het meest resistente resultaat weer te geven.

Tabel 4.1.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/6437 (*P.aeruginosa*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	I	R	*
Amikacine	R	188	17	38	131	2 <sup>3,4</sup>
Tobramycine	R	139	-	-	138	1 <sup>3</sup>
Piperacilline-tazobactam	R	168	-	-	167	1 <sup>3</sup>
Meropenem	R	166	-	1	165	-
Ceftazidime	R	188	-	2	186	-
Cefepime	R	169	-	-	168	1 <sup>3</sup>
Chinolones						
Ciprofloxacin	R	152	-	1	151	-
Levofloxacin	R	16	-	-	16	-
Moxifloxacin	R	2	-	-	2	-
Norfloxacin	R	9	-	-	9	-
Ofloxacin	R	15	-	-	15	-
«Chinolone» <sup>1</sup>	R	10	-	-	10	-
Colistine <sup>2</sup>	S	31	31	-	-	-

<sup>1</sup> Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

<sup>2</sup> Hoewel colistine niet op het antwoordformulier vermeld was, geven wij hier toch de resultaten ervan weer; het is het antibioticum dat door de meerderheid van de laboratoria (die deze vraag beantwoord hebben) als bijkomend te testen antibioticum vermeld werd en door 31 laboratoria (waaronder sommige van de experten) reeds getest werd.

<sup>3</sup> Eén laboratorium vermeldde dat het voor amikacine 3 verschillende resultaten bekwam met 3 verschillende methoden (Phoenix: S; Rosco: I; E-test: R) en dat het in routine het staal naar een referentiecentrum zou sturen voor de definitieve interpretatie.

<sup>4</sup> Eén laboratorium zou het staal in routine doorsturen voor bepaling van de gevoeligheid aan amikacine, tobramycine, piperacilline-tazobactam en cefepime.

Het in de tabellen 4.1.2. tot en met 4.1.9 weergegeven resultaat is het finale resultaat, na eventuele wijziging via toepassing der expert-regels.

Niet alle deelnemers vermeldden de gebruikte methode of lading. Voor zover deze aangegeven werd door de deelnemers, hebben wij voor de schijfjesmethode volgens CLSI en ROSCO (NEO-SENSITABS) mediaan, minimum en maximum diameter bepaald.

Sommige deelnemers vermeldden een andere lading dan de aangewezen lading of vermeldden de lading niet; deze laboratoria werden niet in de berekening der medianen,

minimum en maximum opgenomen. Er dient opgemerkt dat een aantal laboratoria bij groei tot tegen het schijfje een diameter gelijk aan "nul" rapporteren. Nochtans is het aangewezen dat in dergelijke gevallen geen "nul" geantwoord wordt, doch de diameter van het schijfje gerapporteerd wordt. Deze resultaten werden evenmin in aanmerking genomen in de hiernavolgende tabellen.

Tabel 4.1.2. Bekomen diameters met de schijfjesmethode volgens CLSI voor staal M/6437 (*P. aeruginosa*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Amikacine	37 (40)	30	10	6 - 14	-	1	39
Tobramycine	16 (18)	10	6	6 - 10	-	-	18
Piperacilline-tazobactam	26 (32)	110	6	6 - 10	-	-	32
Meropenem	30 (36)	10	6	6 - 17	-	-	36
Ceftazidime	35 (39)	30	6	6 - 11	-	-	39
Cefepime	28 (32)	30	6	6 - 11	-	-	32
Chinolones							
Ciprofloxacin	32 (37)	5	6	6 - 10	-	-	37
Levofloxacin	3 (4)	5	6	6 - 6	-	-	4
Norfloxacin	2 (2)	10	7	6 - 8	-	-	2
Ofloxacin	3 (3)	5	6	6 - 6	-	-	3
Colistine	- (3)	-	-	-	3	-	-

Tabel 4.1.3. Bekomen diameters met de schijfjesmethode volgens ROSCO voor staal M/6437 (*P. aeruginosa*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Amikacine	57 (70)	40	17	10 - 24	9	22 <sup>2</sup>	39
Tobramycine	38 (47)	40	9	8 - 10	-	-	47
Piperacilline-tazobactam	50 (59)	110	9	6 - 13	-	-	59
Meropenem	46 (56)	10	10	6 - 13	-	-	56
Ceftazidime <sup>1</sup>	62 (73)	30	10	7 - 14	-	-	73
Cefepime	52 (61)	30	10	8 - 13	-	-	61
Chinolones							
Ciprofloxacin <sup>1</sup>	41 (51)	10	10	9 - 13	-	-	51
Levofloxacin	8 (8)	5	9	9 - 9	-	-	8
Moxifloxacin	1 (2)	10	10	10 - 10	-	-	2
Norfloxacin	4 (4)	10	10	9 - 10	-	-	4
Ofloxacin	9 (10)	10	10	8 - 10	-	-	10
"Chinolone"	- (1)	-	-	-	-	-	1
Colistine	2 (10)	50	22.5	17-28	10	-	-

<sup>1</sup> Tevens antwoordde één laboratorium een diameter <9 mm. voor ceftazidime en ciprofloxacin

<sup>2</sup> Eén laboratorium vermeldde dat het voor amikacine 3 verschillende resultaten bekwam met 3 verschillende methoden (Phoenix: S; Rosco: I; E-test: R) en dat het in routine het staal naar een referentiecentrum zou sturen voor de definitieve interpretatie.

De resultaten die met de E-test bekomen werden, zijn samengevat in onderstaande tabel 4.1.4. Gezien het gering aantal gebruikers is een adequate statistische verwerking onmogelijk. Ter informatie geven wij echter wel de door de laboratoria gevonden MIC-waarden per antibioticum weer.

Tabel 4.1.4. Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor staal M/6437 (*P. aeruginosa*).

Antibioticum	Resultaat			MIC-waarden
	S	I	R	
Amikacine	-	2	3 <sup>1</sup>	24 (2x), 48, 64, >256
Tobramycine	-	-	2	>256 (2x)
Piperacilline-tazobactam	-	-	3	>256 (3x)
Meropeneme	-	-	4	>32 (4x)
Ceftazidime	-	-	3	192, >64, >256
Cefepime	-	-	3	>32, >256 (2x)
Chinolones				
Ciprofloxacine	-	-	2	>32 (2x)
Ofloxacine	-	-	1	>32
Colistine	1	-	-	1

<sup>1</sup> Eén laboratorium vermeldde dat het voor amikacine 3 verschillende resultaten bekam met 3 verschillende methoden (Phoenix: S; Rosco: I; E-test: R) en dat het in routine het staal naar een referentiecentrum zou sturen voor de definitieve interpretatie.

De resultaten bekomen met de Vitek worden weergegeven in tabel 4.1.5.

Tabel 4.1.5. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/6437 (*P. aeruginosa*).

Antibioticum	Vitek 1			Aantal labos dat deze verdunning vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	Finaal resultaat	Meest vermelde verdunning		
	S	I	R	
Amikacine	-	-	3	≥ 64 2 (3)
Tobramycine	-	-	3	≥ 6 2 (3)
Piperacilline-tazobactam	-	-	3	≥ 128 2 (3)
Meropenem	-	-	3	≥ 16 2 (3)
Ceftazidime	-	1	2	16 en ≥ 32 1 en 1 (3)
Cefepime	-	-	3	≥ 32 2 (3)
Chinolones				
Ciprofloxacine	-	-	2	≥ 4 1 (2)
"Chinolone"	-	-	1	≥ 4 1 (1)

Antibioticum	Vitek 2				
	Finaal resultaat			Meest vermelde verdunning	Aantal labos dat deze verdunning vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Amikacine	4	11	38	≥ 64	31 (53)
Tobramycine	-	-	53	≥ 16	45 (53)
Piperacilline-tazobactam	-	-	54	≥ 128	46 (54)
Meropenem	-	1	52	≥ 16	45 (53)
Ceftazidime	-	1	53	≥ 64	38 (54)
Cefepime	-	-	54	≥ 64	46 (54)
Chinolones					
Ciprofloxacin	-	1	43	≥ 4	37 (44)
Levofloxacin	-	-	5	≥ 8	3 (5)
Norfloxacin	-	-	2	≥ 16	2 (2)
Ofloxacin	-	-	1	≥ 8	1 (1)
"Chinolone"	-	-	6	≥ 4	5 (6)
Colistine	7	-	-	1	2 (7)

Antibioticum	Vitek 2 compact				
	Finaal resultaat			Meest vermelde verdunning	Aantal labos dat deze verdunning vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Amikacine	-	3	3	32 en ≥ 64	3 en 3 (6)
Tobramycine	-	-	5	≥ 16	5 (5)
Piperacilline-tazobactam	-	-	6	≥ 128	6 (6)
Meropenem	-	-	6	≥ 16	6 (6)
Ceftazidime	-	-	6	≥ 64	5 (6)
Cefepime	-	-	6	≥ 64	6 (6)
Chinolones					
Ciprofloxacin	-	-	6	≥ 4	5 (6)

In de meeste gevallen is de 'meest vermelde verdunning' de enige die vermeld werd door de deelnemers; een aantal laboratoria vermeldden immers de gevonden verdunning niet. Uiteraard waren er laboratoria die één verdunning verschillend van de meest vermelde, gevonden hebben. In enkele gevallen werd een grotere afwijking gevonden:

- Vitek 2:
  - o voor amikacine vonden 4 laboratoria een verdunning van 16 mg/l en 11 laboratoria een verdunning van 32 mg/l
  - o voor tobramycine vond 1 laboratorium een verdunning van ≥ 64 mg/l
  - o voor piperacilline-tazobactam vond 1 laboratorium een verdunning van > 256 mg/l
  - o voor meropenem vond 1 laboratorium een verdunning > 32 mg/l
  - o voor ceftazidime vonden 2 laboratoria een verdunning van ≥ 16 mg/l en 7 laboratoria een verdunning van 32 mg/l
  - o voor cefepime vond 1 laboratorium een verdunning van 128 mg/l
  - o voor ciprofloxacin vond 1 laboratorium een verdunning van 8 mg/l
  - o voor levofloxacin vonden 2 laboratoria een verdunning van 4 mg/l
  - o voor colistine vond 1 laboratorium een verdunning van ≤ 0.5 mg/l
- Vitek 2 compact:
  - o voor ceftazidime vond 1 laboratorium een verdunning van 32 mg/l
  - o voor ciprofloxacin vond 1 laboratorium een verdunning van ≥ 16 mg/l

De resultaten bekomen met de ATB methode worden weergegeven in tabel 4.1.6. De meeste laboratoria antwoordden enkel het resultaat (S, I of R) en gaven geen waarden weer.

Tabel 4.1.6. Resultaten bekomen met de ATB methode voor staal M/6437 (*P. aeruginosa*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Amikacine	-	3	14
Tobramycine	-	-	16
Piperacilline-tazobactam	-	-	15
Meropenem	-	1	14
Ceftazidime	-	-	16
Cefepime	-	-	14
Chinolones			
Ciprofloxacin	-	-	15
Norfloxacin	-	-	1
"Chinolone"	-	-	1
Colistine	7	-	-

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.1.7.

Tabel 4.1.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor staal M/6437 (*P. aeruginosa*).

Antibioticum	Finaal resultaat			Meest vermeldde verdunning	Aantal labo's dat deze verdunning vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Amikacine	6 <sup>1</sup>	1	1	16	7 (8)
Piperacilline-tazobactam	-	-	8	> 64/4	8 (8)
Meropenem	-	-	8	> 8	8 (8)
Ceftazidime	-	-	8	> 16	8 (8)
Cefepime	-	-	8	> 16	8 (8)
Chinolones					
Ciprofloxacin	-	-	6	> 2	6 (6)
Levofloxacin	-	-	1	> 4	1 (1)
"Chinolone"	-	-	1	> 2	1 (1)

<sup>1</sup> Eén laboratorium vermeldde dat het voor amikacine 3 verschillende resultaten bekam met 3 verschillende methoden (Phoenix: S; Rosco: I; E-test: R) en dat het in routine het staal naar een referentiecentrum zou sturen voor de definitieve interpretatie.

Onderzoek door de firma Becton Dickinson betreffende de resultaten bekomen voor amikacine met Phoenix, leverde volgende gegevens op:

«Bijkomend onderzoek, uitgevoerd door het «Antibiotic Resistance Monitoring and Reference Laboratory» in London, heeft aangetoond dat de MIC voor amikacin bij deze «*Pseudomonas aeruginosa*» stam 32 µg/ml bedraagt. Hierbij werd de standaard broth microdilutie methode, algemeen aanvaard als zijnde de referentiemethode, gebruikt. Volgens de richtlijnen van de CLSI, beschreven in het document M100-S16, January 2006, wordt een MIC van 32 als intermediair geïnterpreteerd.

Zoals door u aangegeven bepaalde het Phoenix systeem, bij de meeste gebruikers, een MIC voor amikacin van 16, wat ook het geval was in onze testen. Bij vergelijking van verschillende antibiogrammethoden tov van de referentiemethode is het gekend dat een foutmarge van +/- 1 verdunning kan voorkomen en ook geaccepteerd wordt. Het is dan ook zeer moeilijk om deze MIC variatie op korte termijn weg te werken.

Tijdens de validatiestudies van het Phoenix systeem tov de referentiemethode werd voor amikacin bij Gram negatieve bacteriën een «essential agreement» van 95% bekomen en een «categorical agreement» van 100%.

Onze mensen van R&D blijven dit verder monitoren.»

De resultaten bekomen met de toestellen Osiris en Sirscan worden weergegeven in tabellen 4.1.8. en 4.1.9. Er zijn momenteel nog te weinig gebruikers (of te weinig gebruikers die een kwantitatief resultaat antwoorden) van deze toestellen om de kwantitatieve resultaten statistisch zinvol te verwerken. Indien het aantal gebruikers toeneemt, zal dit uiteraard wel het geval zijn.

Tabel 4.1.8. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/6437 (*P. aeruginosa*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Amikacine	-	-	4
Tobramycine	-	-	2
Piperacilline-tazobactam	-	-	3
Meropenem	-	-	2
Ceftazidime	-	-	4
Cefepime	-	-	3
Chinolones			
Ciprofloxacin	-	-	3
Levofloxacin	-	-	1
Norfloxacin	-	-	2
Colistine	1	-	-

Tabel 4.1.9. Resultaten bekomen met de Sirscan voor staal M/6437 (*P. aeruginosa*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Amikacine	-	3	4
Tobramycine	-	-	4
Piperacilline-tazobactam	-	-	6
Meropenem	-	-	7
Ceftazidime	-	-	7
Cefepime	-	-	7
Chinolones			
Ciprofloxacin	-	-	3
Levofloxacin	-	-	2
Ofloxacin	-	-	2
Colistine	1	-	-

Tot slot dient vermeld dat vijf laboratoria niet vermeldden welke techniek zij gebruikt hebben ter bepaling van de gevoeligheid voor één of meer antibiotica.

De meeste laboratoria behielden het ruw resultaat voor het antwoorden van het finale resultaat. Toch wijzigden enkele laboratoria het ruw resultaat, al dan niet op basis van expert regels:

- amikacine:
  - o S/R -> R
    - Rosco: 1 labo
  - o I -> R
    - Rosco: 2 labos (waarvan 1 mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken)
    - Sirscan: 1 labo
- levofloxacin:
  - o I -> R
    - Rosco: 2 labos (mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken)

127 laboratoria hebben een voorstel gedaan voor eventueel bijkomend te testen antibiotica; sommige hebben meer dan 1 antibioticum voorgesteld; een aantal hebben deze antibiotica reeds getest (en het antwoord weergegeven). De voorstellen zijn weergegeven in tabellen 4.1.10 (combinatie van de antibiotica per laboratorium) en 4.1.11. (per individueel antibioticum).

Tabel : 4.1.10. Voorgestelde antibiotica om eventueel bijkomend te testen voor staal M/6437 (*P. aeruginosa*); combinatie van de antibiotica per laboratorium.

Voorgestelde antibiotica	Aantal laboratoria
Colistine	82
Colistine + aztreonam	4
Colistine + polymixine B	2
Colistine + ciprofloxacine	1
Colistine + fosfomycine	1
Colistine + gentamicine	1
Colistine + isepamicine	1
Colistine + levofloxacine	1
Colistine + polymixines	1
Colistine + ticarcilline-clavulaanzuur	1
Colistine + epsilon test metallo- $\beta$ -lactamase	1
Colistine + aztreonam + imipenem	1
Colistine + imipenem + isepamicine	1
Imipenem	6
Imipenem + aztreonam	2
Aztreonam	3
Aztreonam + gentamicine	1
Aztreonam + netilmicine	1
Cotrimoxazole	2
Polymixine B	2
Polymixines	2
Carbenicilline	1
Cefsulodine	1
Ciprofloxacine	1
Fosfomycine	1
Isepamicine	1
Moxifloxacine	1
Ticarcilline-clavulaanzuur	1
Gentamicine + temocilline	1
Gentamicine + temocilline + ticarcilline-clavulaanzuur	1
De richtlijnen van de CLSI volgen	1
<b>Totaal</b>	<b>127</b>

Opmerking: de laboratoria die voorstellen om bijkomend antibiotica te testen die behoren tot de klassen waarvan er reeds een vertegenwoordiger op het antwoordformulier "aangeboden" was om te testen, hebben in de meeste gevallen deze aangeboden antibiotica getest (echter niet in alle gevallen).



Tabel 4.1.11. Voorgestelde antibiotica om eventueel bijkomend te testen voor staal M/6437 (*P. aeruginosa*); aantal laboratoria per individueel antibioticum.

Voorgestelde antibioticum	Aantal laboratoria
Colistine	98
Aztreonam	12
Imipenem	10
Polymixine B	4
Polymixines	3
Co-trimoxazole	2
Gentamicine	4
Ciprofloxacin	2
Fosfomycine	2
Isepamicine	3
Levofloxacin	1
Ticarcilline-clavulaanzuur	3
Netilmicine	1
Carbenicilline	1
Cefsulodine	1
Moxifloxacin	1
Temocilline	2
Epsilon test metallo- $\beta$ -lactamase	1
De richtlijnen van de CLSI volgen	1
<b>Totaal</b>	<b>152</b>

## 4.2 Cultuur M/6613 (*S. aureus*)

Aantal deelnemers = 193

Niet alle deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor alle antibiotica. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor meer dan één chinolone. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid met meer dan 1 methode; meestal kwamen deze resultaten overeen; waar dit niet het geval was, werd er geopteerd om in onderstaande tabel het meest resistente resultaat weer te geven.

Opvallend is dat 11 laboratoria geen methicilline, oxacilline of cefoxitine getest hebben (hoewel op het antwoordformulier methicilline stond, is het perfect logisch dat laboratoria die over methoden ter bepaling van oxacilline en/of cefoxitine beschikken, één van deze beide (of beiden) testen in plaats van of samen met methicilline). Eén van de 11 laboratoria bepaalde het PBP2a via een antigentest en concludeerde zo dat het een MRSA betrof. Eén van de andere laboratoria antwoordde "MRSA" bij de identificatie, doch deed dit zonder één van de 3 hierboven vermelde antibiotica te antwoorden, noch zonder te vermelden dat het een antigeen (of andere) test uitvoerde om de aanwezigheid van een MRSA te bepalen.

Een aantal laboratoria vermeldde dat zij in routine deze stam zouden doorsturen voor bepaling van *mecA* gen of van PVL-opsporing.

Tabel 4.2.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/6613 (*S. aureus*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	S/I	I	I/R	R	*
Methicilline	R	28	2	-	-	-	25	1 <sup>6</sup>
Oxacilline <sup>1</sup>	R	155	26	-	1	-	127	1 <sup>4</sup>
Cefoxitine <sup>1</sup>	R	33	3+1 <sup>4</sup>	-	-	-	29	-
Erythromycine	S	191	184	-	4	-	2	1 <sup>6</sup>
Clarithromycine <sup>2</sup>	S	3	3	-	-	-	-	-
Clindamycine	S	188	184	-	-	-	2	2 <sup>6,7</sup>
Vancomycine	S	188	183 <sup>5</sup>	-	-	-	2	3 <sup>6,8,9</sup>
Gentamicine	S	174	172	-	-	-	-	2 <sup>6,10</sup>
Fusidinezuur	R	142	3	-	74	1	59	5 <sup>6,9,11,12,13</sup>
Kanamycine	S	57	45	-	6	-	3	3 <sup>9,11</sup>
Chinolones								
Ciprofloxacin	S	101	99	-	-	-	1	1 <sup>6</sup>
Levofloxacin	S	42	40	-	-	-	2	-
Mefloxacine	S	1	1	-	-	-	-	-
Moxifloxacine	S	10	10	-	-	-	-	-
Norfloxacine	S	13	13	-	-	-	-	-
Ofloxacine	S	27	27	-	-	-	-	-
"Chinolone" <sup>3</sup>	S	10	10	-	-	-	-	-

<sup>1</sup> Een aantal laboratoria bepaalde oxacilline en/of cefoxitine in plaats van of samen met methicilline.

<sup>2</sup> Een aantal laboratoria bepaalde clarithromycine in plaats van erythromycine.

<sup>3</sup> Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

<sup>4</sup> Eén laboratorium antwoordde "S" voor cefoxitine maar vermeldde in een opmerking: "beperkte gevoeligheid"; dit laboratorium vermeldde tevens diameter, verdunning en ruwe interpretatie doch geen definitieve interpretatie voor oxacilline doch merkte hierbij op de stam in routine doorgestuurd zou worden om na te gaan of het een CA-MRSA betreft.

<sup>5</sup> Eén laboratorium antwoordde "S" voor vancomycine maar vermeldde in een opmerking dat indien dit antibioticum noodzakelijk zou zijn, de MIC zou moeten bepaald worden.

<sup>6</sup> Eén laboratorium vermeldde wel diameters doch geen interpretatie voor methicilline, erythromycine, clindamycine, vancomycine, fusidinezuur en ciprofloxacin.

- 7 Eén laboratorium vermeldde wel de met de Sirscan gemeten diameter doch geen interpretatie voor clindamycine.
- 8 Eén laboratorium vermeldde dat een interpretatie op basis van de diskdiffusie methode niet geldig is voor vancomycine.
- 9 Eén laboratorium zou in routine de stam doorsturen voor bepaling van gevoeligheid voor vancomycine en kanamycine; een ander laboratorium zou het doorsturen voor bepaling van gevoeligheid voor fusidinezuur en kanamycine.
- 10 Eén laboratorium vermeldde wel de diameter en ruwe interpretatie doch geen definitieve interpretatie voor gentamicine.
- 11 Eén laboratorium vermeldde wel de diameter en ruwe interpretatie doch geen definitieve interpretatie voor fusidinezuur en kanamycine.
- 12 Eén laboratorium vermeldde wel de verdunning doch geen definitieve interpretatie voor fusidinezuur.
- 13 Eén laboratorium vermeldde dat er voor fusidinezuur geen referentiediameter bestaat.

Het in de tabellen 4.2.2. tot en met 4.2.9 weergegeven resultaat is het finale resultaat, na eventuele wijziging via toepassing der expert-regels.

Niet alle deelnemers vermeldden de gebruikte methode of lading. Voor zover deze aangegeven werd door de deelnemers, hebben wij voor de schijfjesmethode volgens CLSI en ROSCO (NEO-SENSITABS) mediaan, minimum en maximum diameter bepaald. Sommige deelnemers vermeldden een andere lading dan de aangewezen lading of vermeldden de lading niet; deze laboratoria werden niet in de berekening der medianen, minimum en maximum opgenomen.

Sommige laboratoria hebben geen diameter vermeld voor oxacilline omdat zij doorgroei in de zone rond het schijfje vaststelden

Tabel 4.2.2. Bekomen diameters met de schijfjesmethode volgens CLSI voor staal M/6613 (*S. aureus*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Oxacilline <sup>1</sup>	22 (29)	1	7,5	6 - 27	4	-	25	-
Cefoxitine	9 (12)	30	17	12 - 21	1+1 <sup>3</sup>	-	10	-
Erythromycine	36 (39)	15	25,5	15 - 33	38	1	-	-
Clarithromycine	3 (3)	15	28	27 - 30	3	-	-	-
Clindamycine	34 (40)	2	26	21 - 30	40	-	-	-
Vancomycine	34 (37)	30	17	14 - 24	36	-	1	-
Gentamicine	33 (37)	10	22	18 - 25	36	-	-	1 <sup>4</sup>
Fusidinezuur	19 (21)	10	11	8 - 15	-	1	18	2 <sup>5,6</sup>
Kanamycine	13 (15)	30	21	15 - 23	14	1	-	-
Chinolones								
Ciprofloxacin	22 (25)	5	25	21 - 30	25	-	-	-
Levofloxacin	7 (7)	5	26	18 - 31	7	-	-	-
Moxifloxacin	2 (2)	5	28	27 - 29	2	-	-	-
Norfloxacin <sup>2</sup>	2 (2)	*	*	* - *	2	-	-	-
Ofloxacin	6 (6)	5	23,5	17 - 30	6	-	-	-
"Chinolone"	1 (1)	5	29	29 - 29	1	-	-	-

- 1 Een 23<sup>e</sup> laboratorium bekwam bij 2 bepalingen van het antibiogram met de schijfjesmethode 2 verschillende diameters.
- 2 De 2 laboratoria vermelden elk een verschillende lading zodat een adequate beoordeling moeilijk uit te voeren is.
- 3 Eén laboratorium antwoordde "S" voor cefoxitine (schijfjes) maar vermeldde in een opmerking: "beperkte gevoeligheid"; dit laboratorium vermeldde tevens diameter (Rosco) en verdunning (Vitek 2) en ruwe interpretatie doch geen definitieve interpretatie voor oxacilline doch markte hierbij op de stam in routine doorgestuurd zou worden om na te gaan of het een CA-MRSA betreft.
- 4 Eén laboratorium vermeldde wel de diameter en ruwe interpretatie doch geen definitieve interpretatie voor gentamicine.
- 5 Eén laboratorium vermeldde wel de diameter en ruwe interpretatie doch geen definitieve interpretatie voor fusidinezuur (schijfjes) en kanamycine (Rosco).
- 6 Eén laboratorium vermeldde dat er voor fusidinezuur geen referentiediameter bestaat.

Tabel 4.2.3. Bekomen diameters met de schijfjesmethode volgens ROSCO voor staal M/6613 (*S. aureus*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)				
					S	I	I/R	R	*
Methicilline	6 (15)	29	20	11 - 25	2	-	-	12	1 <sup>4</sup>
Oxacilline	49 (58)	1	11	7 - 22	8	1	-	48	1 <sup>5</sup>
Cefoxitine	11 (16)	29	21	14 - 30	2	-	-	14	-
Erythromycine <sup>1</sup>	62 (76)	78	30	21 - 38	73	1	-	1	1 <sup>4</sup>
Clindamycine <sup>2</sup>	63 (71)	25	34	22 - 47	68	-	-	2	1 <sup>4</sup>
Vancomycine <sup>3</sup>	(67)				64 <sup>6</sup>	-	-	1	2 <sup>4,7</sup>
	36	5	17	13 - 20					
	23	70	20	16 - 27					
Gentamicine	55 (62)	40	27	20 - 34	61	-	-	-	1 <sup>4</sup>
Fusidinezuur	28 (40)	100	18,5	9 - 23	1	3	1	34	1 <sup>4</sup>
Kanamycine	28 (36)	100	26	22 - 34	27	5	-	3	1 <sup>8</sup>
Chinolones									
Ciprofloxacin <sup>2</sup>	29 (33)	10	22	29 - 35	32	-	-	-	1 <sup>4</sup>
Levofloxacin	10 (11)	5	26,5	21 - 31	9	-	-	2	-
Moxifloxacin	2 (4)	5	24,5	21 - 28	4	-	-	-	-
Norfloxacin	3 (4)	10	22	20 - 25	4	-	-	-	-
Ofloxacin	18 (19)	10	28	18 - 33	10	-	-	-	-
"Chinolone"	1 (3)	10	28	28 - 28	3	-	-	-	-

- <sup>1</sup> Tevens antwoordde één laboratorium een diameter > 30 mm. voor erythromycine
- <sup>2</sup> Tevens antwoordde één laboratorium een diameter > 30 mm. voor clindamycine en ciprofloxacin
- <sup>3</sup> Er bestaan 2 verschillende vancomycineschijfjes met een andere lading. De resultaten voor beide ladingen worden afzonderlijk vermeld in de tabel.
- <sup>4</sup> Eén laboratorium vermeldde wel diameters doch geen interpretatie voor methicilline, erythromycine, clindamycine, vancomycine, fusidinezuur en ciprofloxacin.
- <sup>5</sup> Eén laboratorium antwoordde "S" voor cefoxitine (schijfjes) maar vermeldde in een opmerking: "beperkte gevoeligheid"; dit laboratorium vermeldde tevens diameter (Rosco) en verdunning (Vitek 2) en ruwe interpretatie doch geen definitieve interpretatie voor oxacilline doch markte hierbij op de stam in routine doorgestuurd zou worden om na te gaan of het een CA-MRSA betreft.
- <sup>6</sup> Eén laboratorium antwoordde "S" voor vancomycine maar vermeldde in een opmerking dat indien dit antibioticum noodzakelijk zou zijn, de MIC zou moeten bepaald worden.
- <sup>7</sup> Eén laboratorium vermeldde dat een interpretatie op basis van de diskdiffusie methode niet geldig is voor vancomycine.
- <sup>8</sup> Eén laboratorium vermeldde wel de diameter en ruwe interpretatie doch geen definitieve interpretatie voor fusidinezuur (schijfjes) en kanamycine (Rosco).

De resultaten die met de E-test bekomen werden, zijn samengevat in onderstaande tabel 4.2.4. Hoewel het aantal resultaten beperkt is en een statistische analyse van beperkt belang, is er toch voor gekozen deze gegevens te tonen, met name wegens de uiteenlopende resultaten van oxacilline en vancomycine.

Tabel 4.2.4. Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor staal M/6613 (*S. aureus*).

	n res.	MIC (mg/l)									Resultaat			**
		< 0.125	0.125	0.5	1	2	4	8	16	32	S	I	R	
		-	-	-	-	-	-	-	-	-				
			0.5	12	2	4	8	16	32	64				
Oxacilline	5	-	-	2	-	-	1	-	1	1	1	-	3	1 <sup>1</sup>
Erythromycine	2	1	1	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-
Clindamycine	2	1	-	1	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-
Vancomycine	8	-	-	-	1	6	1	-	-	-	8	-	-	-
Gentamicine	2	-	1	1	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-
Chinolones														
Ciprofloxacin	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Ofloxacin	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-

<sup>1</sup> Eén laboratorium gaf wel de gevonden MIC op (0.75 mg/l) maar stelde dat de interpretatie niet weerhouden werd gezien de stam op de oxascreen bodem groeide.

De resultaten bekomen met de verschillende Vitek toestellen worden weergegeven in tabel 4.2.5.

Tabel 4.2.5. Resultaten bekomen met de verschillende Vitek toestellen voor staal M/6613 (*S. aureus*).

Antibioticum	Vitek 1			Aantal labos dat deze verdunning vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	Finaal resultaat	Meest vermelde verdunning	S I R	
Oxacilline	1	- 1	2	1 (2)
Erythromycine	2	- -	≤ 0.5	1 (2)
Clindamycine	2	- -	≤ 0.5	1 (2)
Vancomycine	2	- -	≤ 10	1 (2)
Gentamicine	2	- -	≤ 2	1 (2)
Fusidinezuur	-	- 2	≥ 16	1 (2)
Chinolones				
Ciprofloxacin	1	- -	-	- (1)
Norfloxacin	1	- -	≤ 4	1 (1)

Antibioticum	Vitek 2					
	Finaal resultaat	Meest vermelde verdunning			Aantal labos dat deze verdunning vermelde (Totaal aantal gebruikers)	
	S	I	R	*		
Oxacilline	10	-	36	1 <sup>1</sup>	≥ 4	22 (47)
Erythromycine	54	-	-	-	≤ 0.25	46 (54)
Clindamycine	54	-	-	-	≤ 0.25	47 (54)
Vancomycine	54	-	-	-	2	26 (54)
Gentamicine	53	-	-	-	≤ 0.5	47 (53)
Fusidinezuur	2	51	1	-	8	39 (54)
Kanamycine	2	-	-	-	-	- (2)
Chinolones						
Ciprofloxacin	35	-	1	-	≤ 0.5	31 (36)
Levofloxacin	13	-	-	-	≤ 0.25	13 (13)
Moxifloxacin	4	-	-	-	≤ 0.25	4 (4)
Norfloxacin	2	-	-	-	0.5	2 (2)
"Chinolone"	4	-	-	-	≤ 0.5	3 (4)

Antibioticum	Vitek 2 compact				
	Finaal resultaat	Meest vermelde verdunning		Aantal labos dat deze verdunning vermelde (Totaal aantal gebruikers)	
	S	I	R		
Oxacilline	3	-	3	2	3 (6)
Erythromycine	6	-	-	≤ 0.25	6 (6)
Clindamycine	6	-	-	≤ 0.25	6 (6)
Vancomycine	6	-	-	≤ 1	4 (6)
Gentamicine	5	-	-	≤ 0.5	5 (5)
Fusidinezuur	-	5	-	8	5 (5)
Chinolones					
Ciprofloxacin	4	-	-	≤ 0.5	4 (4)
Ofloxacin	1	-	-	-	- (1)

<sup>1</sup> Eén laboratorium antwoordde "S" voor cefoxitine (schijfjes) maar vermelde in een opmerking: "beperkte gevoeligheid"; dit laboratorium vermelde tevens diameter(Rosco) en verdunning (Vitek 2) en ruwe interpretatie doch geen definitieve interpretatie voor oxacilline doch markte hierbij op de stam in routine doorgestuurd zou worden om na te gaan of het een CA-MRSA betreft.

De firma bioMérieux, die gecontacteerd werd over de problemen met de oxacilline, heeft het staal onderzocht en gaf volgend antwoord: « De kaart AST-P536 stelt de resistentie tegen oxacilline niet op een betrouwbare wijze vast op deze stam, hetgeen leidt tot een expertise die zich uitspreekt voor een verworven penicillinase in dit geval. Om de performanties van het systeem te verbeteren, heeft bioMérieux een cefoxitine-inductietest op punt gesteld die dit soort resistentie detecteert. De resultaten van deze test zullen weergegeven worden als +/- . Deze test zou beschikbaar moeten zijn voor de VITEK 2 gebruikers vanaf september 2006. »

In de meeste gevallen is de 'meest vermelde verdunning' de enige die vermeld werd door de deelnemers; een aantal laboratoria vermeldden immers de gevonden verdunning niet. Uiteraard waren er laboratoria die één verdunning verschillend van de meest vermelde, gevonden hebben. In enkele gevallen werd een grotere afwijking gevonden:

- Vitek 2:
  - o voor oxacilline vond 1 laboratorium een verdunning van 0.5 mg/l, 6 laboratoria vonden een verdunning van 1 mg/l en 10 laboratoria een verdunning van 2 mg/l
  - o voor erythromycine vonden 2 laboratoria een verdunning van 0.5 mg/l
  - o voor clindamycine vond 1 laboratorium een verdunning van 1 mg/l
  - o voor vancomycine vonden 22 laboratoria een verdunning  $\leq 1$  mg/l
  - o voor fusidinezuur vonden 9 laboratoria een verdunning van 16 mg/l
  - o voor ciprofloxacin vond 1 laboratorium een verdunning van 1 mg/l
- Vitek 2 compact:
  - o voor oxacilline vond 1 laboratorium een verdunning van 1 mg/l en 2 laboratoria een verdunning van  $\geq 4$  mg/l
  - o voor vancomycine vonden 2 laboratoria een verdunning van 2 mg/l

De resultaten bekomen met de ATB methode worden weergegeven in tabel 4.2.6. De meeste laboratoria antwoordden enkel het resultaat (S, I of R) en gaven geen waarden weer.

Tabel 4.2.6. Resultaten bekomen met de ATB methode voor staal M/6613 (*S. aureus*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Oxacilline	2	-	10
Erythromycine	11	2	1
Clindamycine	14	-	-
Vancomycine	13	-	-
Gentamicine	14	-	-
Fusidinezuur	-	13	1
Kanamycine			
Chinolones			
Levofloxacin	12	-	-
Mefloxacine	1	-	-
Norfloxacin	5	-	-
"Chinolone"	1	-	-

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.2.7.

Tabel 4.2.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor staal M/6613 (*S. aureus*).

Antibioticum	Finaal resultaat				Meest vermelde verdunning	Aantal labos dat deze verdunning vermelde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R	*		
Oxacilline	-	-	7	-	$\geq 2$	7 (7)
Cefoxitine	-	-	2	-	$> 8$	2 (2)
Erythromycine	8	-	-	-	$\leq 0.25$	5 (8)
Clindamycine	8	-	-	-	$\leq 0.5$	8 (8)
Vancomycine	8	-	-	-	2	7 (8)
Gentamicine	8	-	-	-	$\leq 1$	8 (8)
Fusidinezuur	-	4	2	1 <sup>1</sup>	$\geq 8$	5 (7)
Chinolones						
Ciprofloxacin	7	-	-	-	$\leq 0.25$	7 (7)
"Chinolone"	1	-	-	-	$\leq 0.25$	1 (1)

<sup>1</sup> Eén laboratorium vermelde wel de verdunning doch geen definitieve interpretatie voor fusidinezuur.

Er dient vermeld dat 3 laboratoria een verdunning van 0.5 mg/l vermeldden voor erythromycine, 1 een verdunning van 4 mg/l voor vancomycine en 2 een verdunning van 4 mg/l voor fusidinezuur (waaronder het laboratorium dat geen interpretatie weergaf).

De resultaten bekomen met de toestellen Osiris en Sirscan worden weergegeven in tabellen 4.2.8. en 4.2.9. Er zijn momenteel nog te weinig gebruikers van deze toestellen (of te weinig gebruikers die een kwantitatief resultaat antwoorden) om de kwantitatieve resultaten statistisch zinvol te verwerken. Indien het aantal gebruikers toeneemt, zal dit uiteraard wel het geval zijn.

Tabel 4.2.8. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/6613 (*S. aureus*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Oxacilline	-	-	4
Erythromycine	5	-	-
Clindamycine	2	-	-
Vancomycine	4	-	-
Gentamicine	4	-	-
Fusidinezuur	-	-	4
Kanamycine	3	-	-
Chinolones			
Ciprofloxacin	4	-	-
Levofloxacin	1	-	-
Norfloxacin	1	-	-

Tabel 4.2.9. Resultaten bekomen met de Sirscan voor staal M/6613 (*S. aureus*).

Antibioticum	Resultaat				
	S	I	I/R	R	*
Oxacilline	1	1	-	4	-
Erythromycine	7	-	-	-	-
Clindamycine	6	-	-	-	1 <sup>1</sup>
Vancomycine	7	-	-	-	-
Gentamicine	4	-	-	-	-
Fusidinezuur	1	-	1	3	-
Kanamycine	2	-	-	1	-
Chinolones					
Ciprofloxacin	2	-	-	-	-
Levofloxacin	2	-	-	1	-
Ofloxacin	2	-	-	-	-

<sup>1</sup> Eén laboratorium vermeldde wel de met de Sirscan gemeten diameter doch geen interpretatie voor clindamycine.

Een aantal laboratoria hebben gebruik gemaakt van specifieke bodems voor opsporen van resistentie of gevoeligheid aan methicilline/oxacilline en/of vancomycine:

- 4 laboratoria bekwamen een resultaat "R" met de MRSA-scherm bodem
- 6 laboratoria gebruikten de MRSA-ID bodem en bekwamen met deze bodem allen een resultaat "R"; nochtans heeft 1 laboratorium als definitief antwoord voor stam M/6613 gekozen voor "S" omdat het laboratorium zowel voor de schijfjes- als de ATB-methode een resultaat "S" bekwam



- 12 laboratoria gebruikten de oxascreen bodem; 11 antwoorden "R"; 1 laboratorium deed geen uitspraak op basis van het resultaat op deze bodem maar verwees naar het resultaat van de MIC-bepaling (waarvoor het labo een resultaat "R" bekam)
- 7 laboratoria bekwamen een resultaat "S" met de vancoscreen bodem

Tot slot dienen we op te merken dat tien laboratoria niet vermeldden welke techniek zij gebruikt hebben ter bepaling van de gevoeligheid voor één of meer antibiotica.

De meeste laboratoria behielden het ruw resultaat voor het antwoorden van het finale resultaat. Toch wijzigden enkele laboratoria het ruw resultaat, al dan niet op basis van expert regels:

- oxacilline:
  - o S->R
    - Rosco: 6 labo's (waarvan 5 mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken)
    - Vitek 2: 9 labo's (allen mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken)
    - Vitek 2 compact: 1 labo (mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken)
    - ATB: 1 labo
    - Phoenix: 5 labo's (waarvan 1 mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken)
    - Osiris: 1 labo
  - o I->R
    - Phoenix: 1 labo (mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken)
- methicilline:
  - o S->R
    - Rosco: 3 labos
- cefoxitine:
  - o I->R
    - Phoenix: 1 labo (mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken)
- erythromycine:
  - o S->R
    - Rosco: 1 labo
  - o I->R
    - ATB: 1 labo
- fusidinezuur:
  - o I->R
    - Vitek 2: 1 labo
    - ATB: 1 labo
- kanamycine:
  - o I->R
    - Rosco: 1 labo
- ciprofloxacin:
  - o S->R
    - Vitek 2: 1 labo
- levofloxacin:
  - o S->R
    - Rosco: 1 labo
    - Sirscan: 1 labo

## V. PARASITOLOGIE

### 5.1. De monsters

Er werden 2 fecessuspensies in formol verstuurd: P/6231 en P/6695.  
Er namen 189 laboratoria deel aan deze enquête.

Het aantal toolkit gebruikers bedroeg 33%. 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,...

De monsters waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

P/6231

Een man van 32 jaar heeft in het kader van «Artsen zonder vakantie» 3 weken in Rwanda verbleven.

P/6695

Een vrouw van 68 jaar keert terug van een rondreis door Zuid-Europa en Noord-Afrika. Na haar terugkeer meldt ze zich bij haar huisarts met diarree en abdominale krampen.

Staal P/6231 bevatte cysten van *Giardia lamblia* en van *Entamoeba histolytica*.  
Staal P/6695 bevatte geen parasieten.

## 5.2. Resultaten

### 5.2.1 Staal P/6231

De 189 laboratoria leverden 400 antwoorden in. 2 laboratoria antwoordden «Afwezigheid van parasieten», 47 laboratoria antwoordden één parasiet, 78 antwoordden 2 parasieten, 53 antwoordden 3 parasieten en 9 laboratoria antwoordden 4 parasieten.

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven

Tabel 5.2.1. Resultaten voor staal P/6231

Resultaat	Aantal
<i>Giardia lamblia</i>	185
<i>Entamoeba histolytica</i>	54
<i>Entamoeba histolytica /dispar</i> <sup>1</sup>	23
<i>Entamoeba dispar</i>	4
<i>Entamoeba coli</i>	25
<i>Entamoeba hartmanni</i>	17
<i>Entamoeba species</i>	12
<i>Entamoeba gingivalis</i>	1
<i>Entamoeba polecki</i>	1
<i>Blastocystis hominis</i>	50
<i>Endolimax nana</i>	14
<i>Iodamoeba butschlii</i>	4
<i>Chilomastix mesnili</i>	2
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
<i>Dientamoeba fragilis</i>	1
<i>Enteromonas hominis</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i>	1
<i>Isospora belli</i>	1
Afwezigheid van parasieten <sup>2</sup>	2
<b>Totaal</b>	<b>400</b>

<sup>1</sup> Deze 23 laboratoria hebben geantwoord dat het onmogelijk is *E. histolytica* en *E. dispar* op morfologische basis te onderscheiden; een groot aantal onder hen zouden in routine het staal doorsturen naar het referentiecentrum (het Instituut voor Tropische Geneeskunde te Antwerpen), al dan niet met de vermelding dat een PCR noodzakelijk is hiervoor.

<sup>2</sup> Wellicht hebben deze beide laboratoria de twee stalen omgewisseld.

De combinaties van parasieten welke door de laboratoria geantwoord werden, worden in onderstaande tabellen weergegeven

Tabel 5.2.2. Combinatie van 2 parasieten geantwoord voor staal P/6231

Combinatie van parasieten	Aantal
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba histolytica</i>	29
<i>Giardia lamblia</i> + <i>E. histolytica</i> / <i>dispar</i>	12
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba coli</i>	14
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba species</i>	5
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba polecki</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	8
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Endolimax nana</i>	3
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis nana</i>	1
<i>Entamoeba species</i> + <i>Entamoeba gingivalis</i>	1
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Enteromonas hominis</i>	1
<b>Totaal</b>	<b>77</b>

Tabel 5.2.3. Combinatie van 3 parasieten geantwoord voor staal P/6231

Combinatie van parasieten	Aantal
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	10
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	7
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Endolimax nana</i>	2
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Entamoeba coli</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>E. histolytica</i> / <i>dispar</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	4
<i>Giardia lamblia</i> + <i>E. histolytica</i> / <i>dispar</i> + <i>Endolimax nana</i>	3
<i>Giardia lamblia</i> + <i>E. histolytica</i> / <i>dispar</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>E. histolytica</i> / <i>dispar</i> + <i>Isospora belli</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba dispar</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	3
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba dispar</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	6
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba species</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	5
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	2
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Iodamoeba butschlii</i>	2
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Iodamoeba butschlii</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Dientamoeba fragilis</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<b>Totaal</b>	<b>53</b>

Tabel 5.2.4. Combinatie van 4 parasieten geantwoord voor staal P/6231

Combinatie van parasieten	Aantal
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	2
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>E. histolytica</i> / <i>dispar</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	2
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba species</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Iodamoeba butschlii</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
Totaal	9

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Giardia lamblia* worden in volgende tabel weergegeven.

Tabel 5.2.5. Evolutiestadia voor *Giardia lamblia* voor staal P/6231

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Cyste	176
Ei	3
Oöcyste	2
Trofozoïet	2
Vegetatieve vorm	1
Volwassen vorm	1
Totaal	185

Alle laboratoria die *Entamoeba hystolytica*, *Entamoeba dispar* of *Entamoeba hystolytica/dispar* geantwoord hebben, hebben als evolutiestadium «cyste» geantwoord.

### 5.2.2 Staal P/6695

De 189 laboratoria leverden 191 antwoorden in. 164 laboratoria antwoordden «Afwezigheid van parasieten», 23 laboratoria antwoordden één parasiet en 2 antwoordden 2 parasieten.

De antwoorden worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.2.6. Antwoorden voor staal P/6695

Parasiet	Aantal
Afwezigheid van parasieten	164
<i>Ascaris lumbricoides</i>	3
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	3
<i>Endolimax nana</i>	3
<i>Giardia lamblia</i>	3
<i>Blastocystis hominis</i>	2
<i>Cryptosporidium parvum</i>	2
<i>Entamoeba histolytica</i>	2
<i>Iodamoeba butschlii</i>	2
<i>Entamoeba coli</i>	1
<i>Entamoeba dispar</i>	1
<i>Entamoeba species</i>	1
<i>Enteromonas hominis</i>	1
<i>Heterophyes heterophyes</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i>	1
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1
Totaal	191

### 5.3. Commentaar op de resultaten van de enquête 2006/1 parasitologie

#### P/6231

Wij verwijzen voor de bespreking eveneens naar de globale rapporten van 2002/3 voor *Entamoeba histolytica* en 2005/3 en 2003/3 voor *Giardia lamblia*.

Een man van 32 jaar heeft in het kader van «Artsen zonder vakantie» 3 weken in Rwanda verbleven. Dit staal bevatte vrij veel cysten van *Giardia lamblia*, die door 184 van de 188 laboratoria werden teruggevonden. Alhoewel deze cysten (foto 1 en 2) niet meer zo mooi waren als in een vers staal waren ze toch steeds zeer goed herkenbaar. Zoals zo dikwijls wanneer men één protozoon vindt werden er ook andere teruggevonden. Zeker in tropische gebieden heeft een (dikwijls onvermijdelijk) foutje in de faecorale hygiëne als gevolg dat men met diverse protozoa besmet wordt. Het is bekend dat dit zelfs na een verblijf van enkele dagen kan optreden. Voornamelijk *Entamoeba* spp. (foto 3) en *Blastocystis* werden gesignaleerd. De species-identificatie van *Entamoeba* is voornamelijk gebaseerd op de grootte van de cyste en het uitzicht en het aantal van de kernen. Op morfologische basis is een onderscheid tussen de pathogene *Entamoeba histolytica* en de niet-pathogene *Entamoeba dispar* niet mogelijk. Dit onderscheid kan nu worden gemaakt op basis van PCR (beschikbaar in het Instituut voor Tropische Geneeskunde te Antwerpen) of ELISA. Globaal mag men stellen dat het identificeren van de andere cysten niet eenvoudig was ondermeer omdat het staal niet heel vers was. De aanwezigheid van *E. histolytica* werd bevestigd door PCR in het Instituut voor Tropische Geneeskunde te Antwerpen.

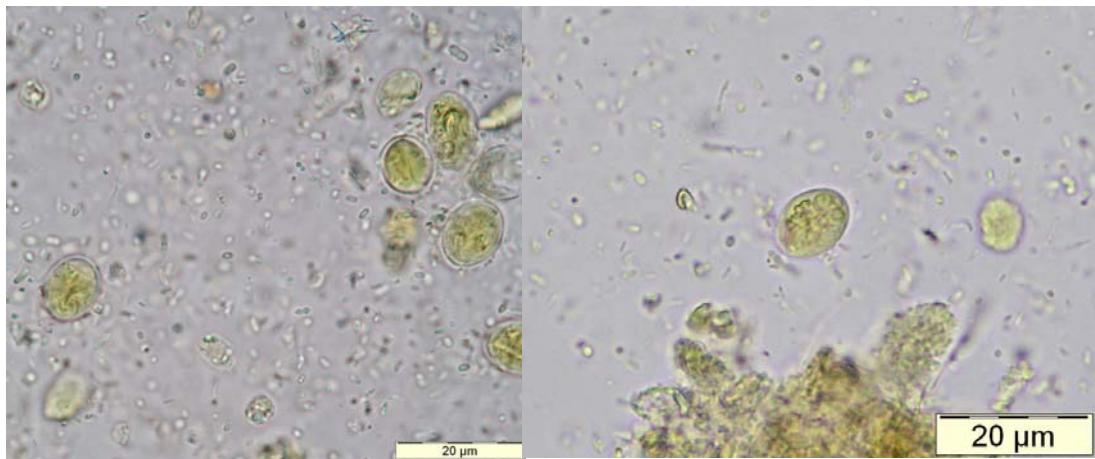


Foto 1 en 2. Links cysten van *Giardia lamblia* in staal P/6231; rechts cyste van *G. lamblia* met twee duidelijk zichtbare kernen in staal P/6231 (beiden gekleurd met Lugol).



Foto 3. Cyste van *Entamoeba histolytica-dispar* met een duidelijk zichtbare kern met centraal karyosoom in staal P/6231 (gekleurd met Lugol).

## P/6695

Een vrouw van 68 jaar keert terug van een rondreis door Zuid-Europa en Noord-Afrika. Na haar terugkeer meldt ze zich bij haar huisarts met diarree en abdominale krampen. Dit staal bevatte geen duidelijk herkenbare parasitaire elementen. 163 van de 188 laboratoria antwoorden dan ook: «afwezigheid van parasieten». Weliswaar kon men «verdachte elementen» aantreffen (fotos 4 en 5). Het was echter niet mogelijk om deze elementen ondubbelzinnig te identificeren. Sommige beelden deden denken aan gistcellen van *Geotrichum candidum* (fotos 6 en 7) of aan *Blastocystis hominis*.

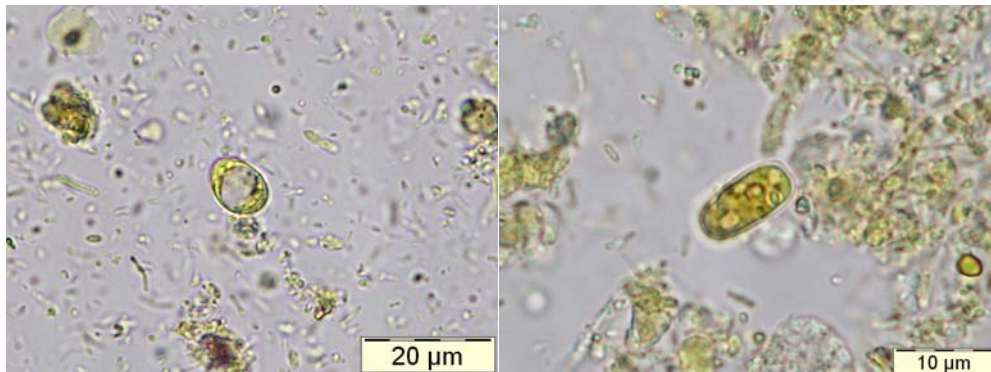


Foto 4 en 5. Links atypische *Blastocystis*-like body (centraal lijkt het eerder op een opening dan op een vacuole); rechts *Geotrichum*-like body (beiden gekleurd met Lugol).

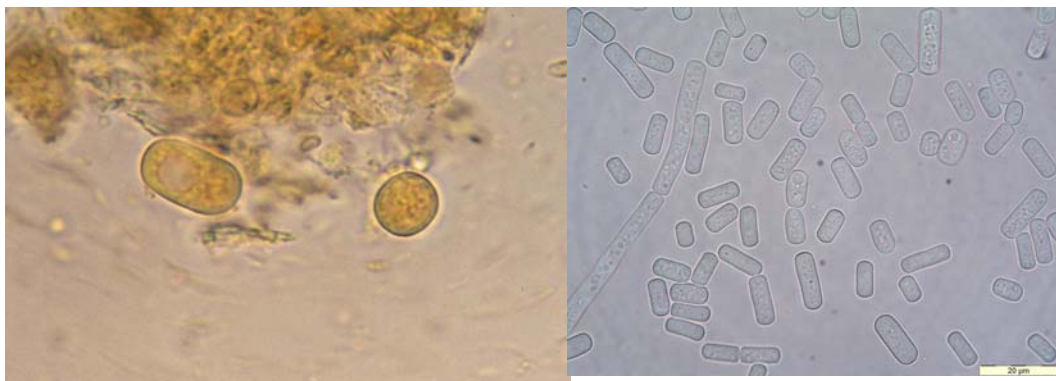


Foto 6 en 7. Links gistcellen van *Geotrichum candidum* in faeces (gekleurd met Lugol); rechts gistcellen van *Geotrichum candidum* in cultuur (ongekleurd).



## Differentiatie van *Entamoeba* spp.

De differentiatie van de verschillende soorten van *Entamoeba* en aanverwante cysten is mogelijk op basis van de grootte, het uitzicht van de kernen (figuur 8 en 9) en het cytoplasma (figuur 8) (1, 2, 3). De cysten van *Entamoeba hartmanni* (vroeger small race *Entamoeba histolytica*) meten 5-10  $\mu\text{m}$ , dezen van *E. histolytica* - *Entamoeba dispar* (morfologisch niet te onderscheiden) 10-20  $\mu\text{m}$ , dezen van *Entamoeba coli* 10(15)-35  $\mu\text{m}$ . Ook het aantal kernen is belangrijk: 1-4 voor *E. hartmanni*, 1-4 voor *E. histolytica* - *E. dispar*, 2-8 (16) voor *E. coli*, 1 voor *Entamoeba polecki*. De kern van *Entamoeba* is gekenmerkt door de aanwezigheid van perifere chromatine en een bij *E. histolytica* gewoonlijk centraal gelegen karyosoom (figuur 9). De kernen van *Endolimax nana* en *Iodamoeba bütschlii* vertonen een ruwe geblokte chromatine massa. Vrij typisch voor *E. histolytica* - *E. dispar* is het feit dat de cysten vrij dikwijls lelijk en moeilijk herkenbaar zijn.

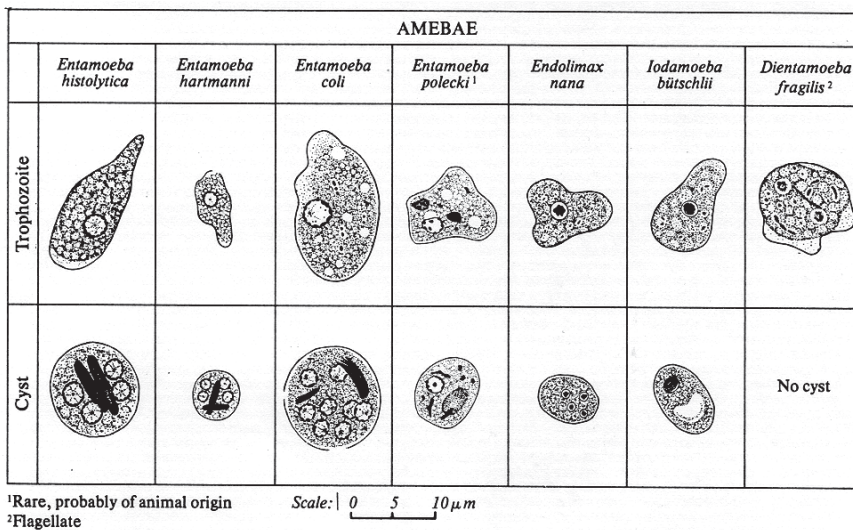
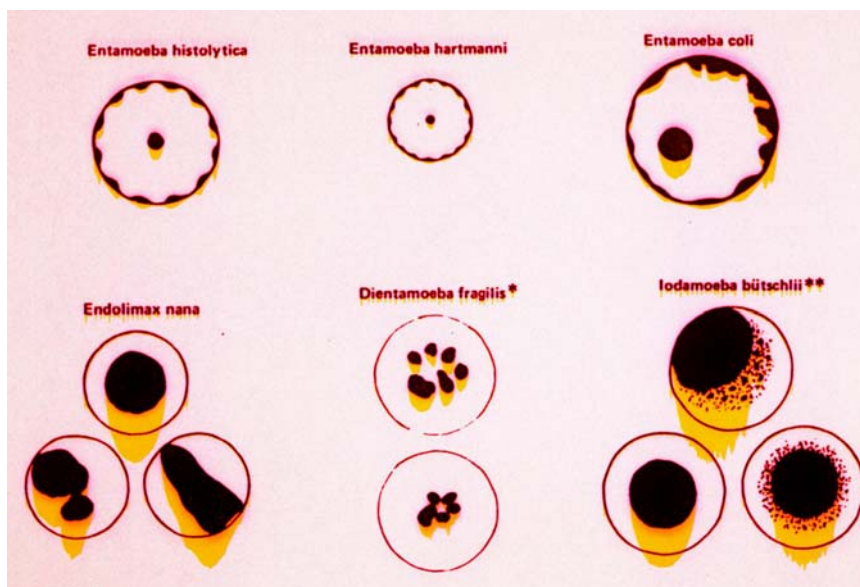
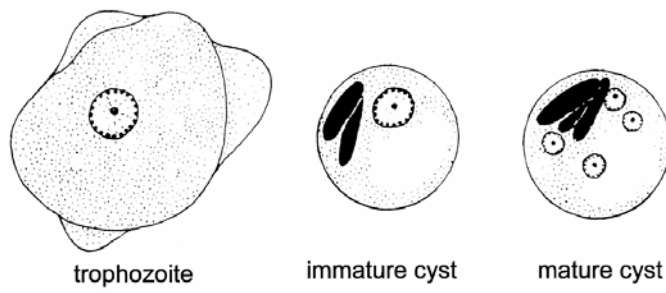


FIGURE 1 Amebae and flagellate (*Dientamoeba fragilis*) found in human stool specimens. (From reference 4.)

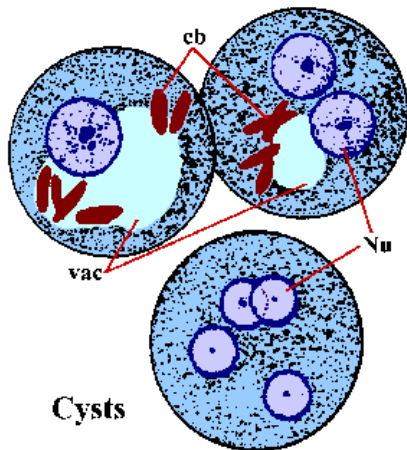
Figuur 8. Differentiatie van amoeben (ref 3).



Figuur 9. Uitzicht van de kernen van *Entamoeba* spp. en aanverwante cysten.



Figuur 10. Trofozoiet, jonge cyste en cyste van *E. histolytica* (ref 2).



Figuur 11. Cyste met één, twee en vier kernen van *E. histolytica* (ref 2). De jongere cysten (met één of twee kernen) hebben doorgaans een vacuole (iodofiel met Lugol) en chromatinestaafjes.

M. Lontie, MCH, Leuven en K. Vernelen, WIV, Brussel

## **REFERENTIES**

1. <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/Default.htm>
2. <http://www.tulane.edu/%7Ewiser/protozoology/>
3. Leber A.L. & Novak S.M. 2003. Intestinal and urogenital amebae, flagellates, and ciliates. p.1990-2007 *In* Manual of Clinical Microbiology, ASM Press, Washington DC.

## VI. SEROLOGIE

### 6.1 Beschrijving van de monsters

Er werden 2 stalen rondgestuurd.

Er was 1 gelyofiliseerd plasmamonster, S/6634, waarop zowel antistoffen tegen syfilis als tegen *Borrelia* bepaald dienden te worden.

Dit staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:  
« Koorts en rash»

De verwachte resultaten waren:

- voor Syfilis: Aanwezigheid van antistoffen
- voor *Borrelia*: Afwezigheid van antistoffen

Er was 1 gelyofiliseerd plasmamonster, S/4173, waarop antistoffen tegen *Toxoplasma* bepaald dienden te worden.

Dit staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:  
«Een jonge vrouw klaagt van vermoeidheid en vertoont klieren.»

Het verwachte resultaat was: Serologie negatief voor *Toxoplasma*.

## 6.2 Syfilis

### 6.2.1. De deelnemers

In het totaal stuurden 181 laboratoria hun enquêteformulier terug. Ze voerden 387 testen uit, met name 216 specifieke («treponemale») testen en 171 aspecifieke («niet-treponemale») testen.

10 laboratoria voerden 1 test uit, 143 laboratoria voerden 2 testen uit, 23 laboratoria 3 testen, 3 laboratoria 4 testen en 2 laboratoria 5 testen.

### 6.2.2. Gebruikte reagentia

Volgende tabel geeft in aantal weer welke reagentia door de deelnemers gebruikt werden:

Tabel 6.2.1. Reagentia gebruikt in de Syfilis-serologie

Fabrikant	Kit	S/6634
Abbott	Murex Syfacard-R (VDRL)	36
	Murex TPHA kit	13
	Architect Syphilis TP	3
	Murex VDRL Carbon antigen	1
	Determine Syphilis	1
	Niet gepreciseerd	2
Alldiag	Niet gepreciseerd	2
Becton Dickinson	Macro-Vue RPR Card Test	13
Biokit	RPR	9
	Syphagen TPHA	9
bioMérieux	Trepo-Spot IF	21
	RPR-nosticon II	19
	RPR Slide Test	3
	Niet gepreciseerd	1
Biosystems	RPR Carbon	1
	TPHA hemagglutinine	1
Biotest	Biotest/Meddens Anti-Treponema pallidum IgM	1
	RPR Carbon	1
Cypress Diagnostics	TPHA kit	1
	Niet gepreciseerd	1
	Cellognost Syphilis H Combipack	15
Dade Behring	Enzygnost Syphilis	4
	VDRL Cardiolipin Ag	2
	SypalCB	4
Diagast	Niet gepreciseerd	1
	ID-Pagia	4
Diamed	ETI-Treponema Screen	6
	Liaison Treponema Screen	3
	Niet gepreciseerd	1
Euroimmun (verdelers Biognost)	Treponema pallidum IgG	2
	Treponema pallidum IgM	1
Forlab	Syphscreen EIA	2
	Niet gepreciseerd	2
Fujirebio	Serodia TPPA	84
	Serodia TPPA auto	1

Innogenetics	Inno-Lia Syphilis	4
	Inno-TPHA	1
	Niet gepreciseerd	1
Lameris	TPHA	18
	RPR	9
	Niet gepreciseerd	1
Lorne laboratories (verdelers) Lucron Bioproducts)	TPHA kit	1
Medigal	RPR latex	6
	RPR Carbon	2
	TPHA	1
Mikrogen	Recomblot IgG	1
	Recomwell IgG	1
	Recomwell IgM	1
New Market Laboratories ltd	TPHA 200	1
Omega	Immutrep RPR kit	9
	Immutrep TPHA kit	4
	Immutrep Carbon antigen	2
Oxoid	VDRL test kit	2
	TPHA test	1
Plasmatec (verdelers Forlab)	RPR Test kit	5
	VDRL Test kit	2
	TPHA Test kit	1
	VDRL Carbon antigen	1
Radim	RPR Card Test	1
Randox	RPR Test	1
Reaction Spinreact	RPR Carbon	29
Remel	RPR Card Test	1
Servibio (verdelers Biognost)	Servitex TPHA	2
	Syphicheck 2	1
Niet gepreciseerd	VDRL	3
	TPHA	2
	RPR	1
<b>Totaal</b>		<b>387</b>

Volgende tabellen geven een overzicht van het type van de gebruikte testen:

Tabel 6.2.2. Overzicht van het type en combinaties van de gebruikte testen (aantal laboratoria).

Aantal testen	Type test	Aantal laboratoria
1 test uitgevoerd	1 x specifiek	9
	1 x aspecifiek	1
2 testen uitgevoerd	1 x specifiek + 1 x aspecifiek	141
	2 x specifiek	1
	2 x aspecifiek	1
3 testen uitgevoerd	2 x specifiek + 1 x aspecifiek	18
	1 x specifiek + 2 x aspecifiek	3
	3 x specifiek	2
4 testen uitgevoerd	3 x specifiek + 1 x aspecifiek	3
5 testen uitgevoerd	4 x specifiek + 1 x aspecifiek	2
<b>Totaal</b>		<b>181</b>

Tabel 6.2.3. Samenvatting van het type en combinaties van de gebruikte testen (aantal laboratoria).

Type test	Aantal laboratoria
Eén test: specifiek	9
Eén test: aspecifiek	1
Combinatie specifiek + aspecifiek	166
Combinatie enkel specifiek	4
Combinatie niet aspecifiek	1
<b>Totaal</b>	<b>181</b>

## 6.2.3. Resultaten

### 6.2.3.1. Specifieke testen

Zes laboratoria hebben specifieke IgM antistoffen bepaald; 3 bekwamen een negatief resultaat, 1 een borderline en 2 een positief.

We dienen hier te vermelden dat 3 van deze laboratoria hiervoor de Trepo-spot IF gebruikten in combinatie met de Fluoline M, hoewel de firma bioMérieux dit niet gevalideerd heeft. De firma heeft trouwens evenmin de combinatie Trepo-spot IF met Fluoline G gevalideerd.

De resultaten die bekomen werden voor de specifieke IgG en/of totale antistoffen worden in onderstaande tabel weergegeven.

Tabel 6.2.4. Resultaten voor de specifieke IgG en/of totale antistoffen op staal S/6634

Resultaat	Aantal
Positief	179
Borderline	9
Negatief	20
Geen antwoord <sup>1</sup>	2
<b>Totaal</b>	<b>210</b>

<sup>1</sup> Deze 2 laboratoria hebben wel een kwantitatief resultaat geantwoord doch geen kwalitatieve interpretatie van dit resultaat.

15 van de 20 negatieve resultaten werden bekomen door de gebruikers van de kit Cellognost Syphilis H Combipack (alle gebruikers van deze kit). De firma Dade Behring werd hiervan op de hoogte gebracht en onderzoekt het probleem; de resultaten hiervan zullen u later meegedeeld worden.

Voor de kits met een voldoende aantal gebruikers hebben wij mediaan, minimum en maximum berekend, voor zover de laboratoria een kwantitatief resultaat geantwoord hebben en in dezelfde eenheden gerapporteerd hebben. Deze resultaten worden weergegeven in tabel 6.2.5.

Tabel 6.2.5. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor specifieke IgG en/of totale antistoffen op staal S/6634 voor de meest gebruikte kits; de resultaten worden uitgedrukt in titers.

Kit	Aantal laboratoria	Mediaan	Minimum	Maximum
Murex TPHA kit (titer)	9	1/160	1/8	1/640
Syphagen TPHA (titer)	8	1/160	1/80	1/320
Trepo-Spot IF (titer)	11	1/320	1/40	1/2560
Serodia TPPA (titer)	79	1/320	0	1/1280
Lameris TPHA (titer)	18	1/320	1/40	1/2560

De negen gebruikers van de Cellognost Syphilis H Combipack die een titer geantwoord hebben, hebben allen een waarde <1/80 geantwoord.

### 6.2.3.2. Aspecifieke testen

De resultaten die bekomen werden voor de aspecifieke testen worden in onderstaande tabel weergegeven.

Tabel 6.2.6. Resultaten voor de aspecifieke testen voor syfilis op staal S/6634

Resultaat	Aantal
Positief	143
Borderline	7
Negatief	19
Geen antwoord <sup>1</sup>	2
Totaal	171

<sup>1</sup> Deze 2 laboratoria hebben wel een kwantitatief resultaat geantwoord doch geen kwalitatieve interpretatie van dit resultaat.

Voor de kits met een voldoende aantal gebruikers hebben wij mediaan, minimum en maximum berekend, voor zover de laboratoria een kwantitatief resultaat geantwoord hebben en in dezelfde eenheden gerapporteerd hebben. Deze resultaten worden weergegeven in tabel 6.2.7.

Tabel 6.2.7. Mediaan, minimum en maximum bekomen met de aspecifieke testen op staal S/6634 voor de meest gebruikte kits; de resultaten worden uitgedrukt in titers.

Kit	Aantal laboratoria	Mediaan	Minimum	Maximum
Murex Syphacard-R (titer)	32	1/4	1/1	1/32
Macro-Vue RPR Card Test (titer)	9	1/4	1/2	1/8
Biokit RPR (titer)	7	1/2	1/1	1/4
RPR-nosticon II (titer)	15	1/2	1/1	1/4
Lameris RPR (titer)	7	1/2	0	1/8
Immutrep RPR kit (titer)	7	1/2	1/2	1/4
Reaction Spinreact RPR Carbon <sup>1</sup> (titer)	23	1/4	0	1/8

<sup>1</sup> Tevens antwoordde één laboratorium een titer van 1/160.



### 6.2.3.3. Overzicht in functie van het aantal uitgevoerde testen

Een overzicht van de resultaten in functie van het aantal uitgevoerde testen wordt gegeven in tabel 6.2.8.

Tabel 6.2.8. Overzicht van de resultaten voor staal S/6634 (syfilis).  
(ST = specifieke test; AST = aspecifieke test; IGM = IgM; P = positief; N = negatief; B = borderline; GA = geen antwoord)

Aantal uitgevoerde testen	Type test	Resultaten	Aantal laboratoria	
1	ST	P	6	
		B	2	
		N	1	
2	AST	P	1	
	ST - AST	P - P	111	
		P - B	3	
		P - N	10	
		B - P	2	
		B - B	2	
		B - N	1	
		N - P	7	
		N - B	1	
		N - N	3	
		GA - GA	1	
		ST - ST	P - N	1
		AST - AST	P - P	1
3	ST - ST - AST	P - P - P	12	
		P - P - N	1	
		P - P - GA	1	
		P - N - P	1	
		P - GA - N	1	
		B - N - P	1	
		N - N - P	1	
		ST - ST - IGM	P - P - P	1
			P - P - N	1
		ST - ST - ST	P - P - N	1
		ST - AST - AST	P - P - N	1
			N - N - N	1
	4	ST - ST - ST - AST	P - P - P - P	1
ST - ST - AST - IGM		P - P - P - N	2	
5	ST - ST - ST - AST - IGM	P - P - P - N - P	1	
		P - B - N - B - B	1	
Totaal			181	

#### 6.2.3.4. Resultaten van de ELISA, chemiluminescentie, Inno-Lia en Western Blot technieken

In onderstaande tabellen 6.2.9. en 6.2.10. vermelden wij de resultaten van deze technieken. Zij zullen uitvoerig besproken worden in het commentaar.

Tabel 6.2.9. Resultaten van de ELISA en chemiluminescentietechnieken voor staal S/6634 (syfilis).

Techniek	Procedure	Aantal laboratoria	Resultaten
Architect	Chemiluminescentie totale Ig	4	4 x positief
Biotest	Elisa IgM	1	positief
Enzygnost	Elisa totale Ig	4	4 x positief
Euroimmun	Elisa IgG	2	2 x positief
	Elisa IgM	1	positief
Liaison	Chemiluminescentie totale Ig	3	3 x positief

De PAGIA (Particle Gel ImmunoAssay) techniek neemt een bijzondere plaats in vermits deze gebruikt maakt van partikels die gesensibiliseerd zijn met de recombinante antigenen TpN15, TpN17, TpN47. Na centrifugering van de tubes die de gelmatrix bevatten, wordt de finale reactie vertaald onder vorm van agglutinatie in aanwezigheid van een positief serum. De 4 laboratoria die deze techniek gebruikt hebben, bekwamen allen een positief resultaat.

Tabel 6.2.10. Resultaten van de confirmatietechnieken voor staal S/6634 (syfilis).

Techniek	Procedure	Aantal laboratoria	Resultaten
Inno-Lia	Line immunoassay totale Ig	4	4 x positief
Western Blot			
Mikrogen	IgG immunoassay	1	positief
	IgM immunoassay	1	negatief

### 6.2.3.5. Interpretaties

De meeste laboratoria kozen voor «Antilichamen detecteerbaar (De diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera)». Enkele verkozen een variant hierop of gaven een eigen interpretatie. Zeven laboratoria antwoordden «Geen antilichamen detecteerbaar».

Een overzicht van de klinische interpretaties wordt in volgende tabel weergegeven:

Tabel 6.2.11. Interpretatie voor staal S/6634 (syfilis).

Interpretatie	Aantal
Antilichamen detecteerbaar (De diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera)	156
Geen antilichamen detecteerbaar	7
Antilichamen detecteerbaar (De diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera) en het staal zal naar het referentiecentrum verstuurd worden voor confirmatie door FTA-Abs	1
Antilichamen detecteerbaar (De diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera) en uitvoeren van confirmatietesten (fluorescentie, titer TPHA en eventueel LIA Innogenetics)	1
Antilichamen detecteerbaar: behandelde syfilis (De diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera)	1
Behandelde infectie of latente syfilis	1
Doorgemaakte infectie	1
Diagnose syfilis op basis 3 testen: 2 specifiek (TPPA), 1 hoog positief RPR	1
Bijkomende onderzoeken worden uitgevoerd in Tropisch Instituut in geval van positief resultaat: FTA, TPHA titer, Inno-Lia en VDRL	1
Bijkomende testen zijn vereist voor besluit <sup>1</sup>	4
Zwak positieve reactie; controlestaal vereist	1
Waarschijnlijk «biologisch vals positief». Controlestaal vereist (na 2 maanden bvb). Klinische toestand? Anamnese?	1
Andere interpretaties, niet gepreciseerd	2
Geen antwoord	3
<b>Totaal</b>	<b>181</b>

<sup>1</sup> Sommige van deze laboratoria vermelden dat de resultaten van de verschillende uitgevoerde testen discordant zijn.

De laboratoria die «Geen antilichamen detecteerbaar» geantwoord hebben, bekwamen de volgende resultaten:

- 1 laboratorium: TPHA negatief
- 3 laboratoria: TPHA en RPR negatief
- 1 laboratorium: TPHA negatief en RPR zwak positief (dit labo gaf de opmerking dat een RPR van 1/8 niet aan syfilis te wijten kan zijn)
- 1 laboratorium: TPHA, VDRL en RPR negatief
- 1 laboratorium: TPHA en FTA-Abs negatief en RPR zwak positief

Drie laboratoria die «Antilichamen detecteerbaar (De diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera)» antwoordden, vermeldden dat een confirmatietest (FTA) aangewezen zou zijn; één laboratorium vermeldde dat een serologische opvolging aangewezen zou zijn.

#### 6.2.4. Commentaar op de resultaten van het onderzoek

##### **Inleiding**

De klinische context van een infectieuze toestand, gesuggereerd door de koorts, leidde tot een op punt stelling, die volgende elementen inhield:

- Een syfilisserologie, die positief bleek te zijn
- Een anamnese, die gericht was op het opsporen van risicogedrag, een eventuele infectiebron, het tijdstip van de besmetting, een vroegere anti-syfilisbehandeling, en een andere seksueel overdraagbare aandoening
- Een uitgebreid klinisch bilan
- Complementaire cardiologische en radiologische onderzoeken

Het geheel van de gegevens liet zeker toe om een syfilisinfectie voorop te stellen, maar niet gerelateerd aan het syndroom van hyperthermie en rillingen. De patiënt, die op de hoogte was van de syfilisinfectie en enkele jaren voordien met penicilline behandeld was, bevond zich in laattijdige latentiefase, die enkel door de positieve serologie aangetoond werd.

##### **Performanties van de technieken**

Op enkele uitzonderingen na, werden met de meeste specifieke en niet-specifieke technieken voor opsporing van *Treponema pallidum* positieve resultaten bekomen. Bij gebrek aan een vroegere serologie, kon de evolutie van de gevonden titers niet beoordeeld worden (stabiel, gestegen of gedaald).

Eén laboratorium heeft de VDRL als enige techniek gebruikt voor de diagnosestelling van syfilis. Een ander laboratorium gebruikte 2 verschillende kits voor bepaling van VDRL, wellicht om de performantie van de resultaten te verhogen. VDRL spoort enkel niet-specifieke antistoffen op en bijgevolg is het noodzakelijk hieraan een techniek te associëren die specifieke antistoffen opspoort. Deze vereiste werd reeds gemeld in voorgaande globale rapporten (enquête 1997/3 en 2004/2).

Op dezelfde wijze geldt dat het uitvoeren van enkel een ELISA IgM techniek niet volstaat als eerste lijnstechniek. Ze moet tenminste vergezeld zijn van een ELISA IgG. Het belang van de isotype IgM ELISA in de dagelijkse praktijk wordt in het volgende hoofdstuk uiteen gezet.

Alle gebruikers van de Cellognost Syphilis H Combipack kit hebben vals negatieve resultaten bekomen. Deze techniek wordt dan ook momenteel door de firma nagekeken.

##### **ELISA en chemiluminescentie technieken**

Tabel 6.2.9. toont de verdeling van de laboratoria die deze technieken gebruikt hebben en de bekomen resultaten. Zowel de totale Ig, als de specifieke IgG en IgM zijn allen positief.

##### *Kinetiek van de IgM antilichamen door ELISA of chemiluminescentie*

Deze antistoffen verschijnen vanaf de 2e week als de patiënt voordien geen specifieke behandeling onderging. Ze kunnen gedurende jaren in lage waarden persistieren. Ondanks hun robuustheid en hun analytische performantie in

termen van gevoeligheid en specificiteit, is het gebruik van de ELISA IgM en chemiluminescentie IgM technieken, tot nader order, niet geïndiceerd, tenzij voor de diagnose van congenitale syfilis bij neonati. Volgens de fabrikanten van deze technieken, zou de bepaling van IgM ook nuttig zijn voor andere klinische toepassingen.

#### *Kinetiek van de IgG antilichamen door ELISA of chemiluminescentie*

De IgG antistoffen verschijnen meestal vanaf de 4e week na de besmetting en persisteren jarenlang.

#### **Western blot en Inno-Lia technieken**

Deze 2 technieken werden gebruikt in het kader van de EKE.

- De Western blot techniek van de firma Mikrogen is gebaseerd op volgende specifieke recombinante proteïnen: Tp47, TmpA, Tp37, Tp17, Tp15. De IgG antistoffen waren positief en de IgM antistoffen negatief. Het negatieve IgM resultaat is compatibel met de diagnose van syfilis in het laattijdige latentiestadium bij een patiënt die enkele jaren voordien reeds met antibiotica behandeld werd en niet opnieuw besmet werd.
- De INNO-LIA techniek gebruikt de recombinante proteïnen Tp47, Tp17, Tp15 en een specifiek synthetisch proteïne TmpA. De resultaten van de 4 gebruikers van deze techniek waren positief. Deze techniek maakt geen onderscheid tussen IgG en IgM en de resultaten worden uitgedrukt onder de vorm van een score.

Deze 2 technieken vertonen het kenmerk dat zij positief zijn in het vroege stadium van de sjanker, een periode waarin de meeste serologische technieken nog negatief zijn. Gezien hun grote gevoeligheid en specificiteit, die beiden verbonden zijn met de immunodominante proteïnen die de samenstelling ervan uitmaken, worden deze technieken beschouwd als referentie- en confirmatietechnieken.

#### **Interpretatie van de resultaten**

De interpretatie van de resultaten kan niet los gezien worden van de klinische context. De bioloog moet kunnen beschikken over de klinische gegevens, zeker in geval van positieve resultaten. Daarom geven wij in het huidige rapport een overzicht weer van de verschillende stadia van een natuurlijk verlopende syfilis, en parallel hiermee, de evolutie van de humorale immunologische respons. Deze laatste wordt gekenmerkt door de productie van specifieke en niet specifieke antilichamen. We zullen ons echter wel beperken tot de meest gebruikte standaardtechnieken, met name VDRL/RPR en TPHA; ter vergelijking wordt eveneens de evolutie van de Western Blot getoond.

**HOE DE RESULTATEN VAN EEN SYFILISSEROLOGIE INTERPRETEREN BIJ  
DE VOLWASSENE IN AFWEZIGHEID VAN EEN ANTIBIOTHERAPIE**

**PRIMAIR BESMETTELIJK STADIUM**

CHRONOLOGIE VAN DE GEBEURTENISSEN	KLINISCHE MANIFESTATIES	SEROLOGIE	OPMERKINGEN
<p>Tijd 0      Besmetting</p> <p>2<sup>e</sup> dag ↓</p> <p>3<sup>e</sup> dag      Sepsis</p> <p>4<sup>e</sup> dag ↓</p> <p>20<sup>e</sup> dag      Incubatie</p> <p>↓</p>	<p>Verspreiding van de treponemen</p> <p>in heel het organisme</p>	<p>Gebruikelijke serologie steeds negatief gedurende de eerste 20 dagen. Te controleren na 3 weken.</p> <p>Western blot (WB)</p> <p>IgG    +</p> <p>IgM    ++</p>	<p>Onderzoek van de sjanker:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- vers, donker veld microscopie</li> <li>- na kleuring</li> <li>- directe of indirecte IF</li> <li>- PCR</li> </ul>
<p>21<sup>e</sup> dag      Sjanker</p>	<p><b>SJANKER :</b></p>		
<p>22<sup>e</sup> dag</p> <p>↓</p> <p>30<sup>e</sup> dag</p>	<p><b>Lokalisatie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- externe genitale organen bij de man, externe en interne genitale organen bij de vrouw</li> <li>- bucco-pharyngeale sjankers</li> <li>- ano-rectale sjankers</li> <li>- sjankers van de vinger, de tepel, de pubis</li> </ul>	<p>FTA abs +</p> <p>TPHA : + ± 80</p> <p>VDRL/RPR : (-)</p> <p>WB IgG : ++</p> <p>WB IgM : ++</p>	<p>De enige verdienste van de immunofluorescente FTA abs is zijn vroege positiviteit. Techniek die aan het verdwijnen is wegens problemen met standardisatie en automatisatie.</p>
<p>31<sup>e</sup> dag</p> <p>↓</p> <p>60<sup>e</sup> tot 90<sup>e</sup> dag</p>	<p><b>Kenmerken</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- pijnloos</li> <li>- verharde basis</li> <li>- heeft spontaan zonder sporen na te laten tussen 1 en 8 weken</li> <li>- is vergezeld van een regionale adenopathie</li> </ul>	<p>FTA abs: +</p> <p>TPHA :&gt; 320</p> <p>VDRL/RPR :&gt; 8</p> <p>WB IgG: ++</p> <p>WB IgM : +++</p>	

## SECUNDAIR BESMETTELIJK STADIUM

CHRONOLOGIE VAN DE GEBEURTENISSEN	KLINISCHE MANIFESTATIES	SEROLOGIE	OPMERKINGEN
<p>De grenzen tussen de primaire en secundaire periode zijn niet scherp afgelijnd. De twee perioden kunnen gemeenschappelijke letsels vertonen. De secundaire manifestaties treden op binnen de 3 maanden na de infectie.</p>	<p>De treponemen circuleren in het bloed → verschillende systemen worden getroffen</p> <p><b>Roseola</b></p> <p>Maculeuse erupties (« fleur de péché »)</p> <p><b>Syfilitiden</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- coronella van Bielt</li> <li>- gepigmenteerd, cirkelvormig, psoriasiform</li> <li>- papulosquameus</li> </ul> <p><b>Secundaire roseola</b></p> <p><b>Muceuse aandoeningen</b> (pijnloos en genezen spontaan)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- lippen</li> <li>- commissurae labiorum</li> <li>- binnenkant van de wangen</li> <li>- amandelen</li> <li>- ano-genitale streek</li> </ul> <p><b>Meningitis</b></p> <p><b>Nieraantasting</b> Proteïnurie, glomerulonefritis door neerslag van immuuncomplexen</p> <p><b>Botaantasting</b> Osteitis met periostitis van de lange beenderen, schedel en ribben</p> <p><b>Diverse manifestaties</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- koorts</li> <li>- hoofdpijn</li> <li>- asthenie</li> <li>- polyadenopathieën</li> <li>- leveraantasting</li> <li>- alopecie "en claire"</li> <li>- alopecie van de wenkbrauwen</li> <li>- arthralgieën</li> </ul>	<p>TPHA +++</p> <p>&gt;2.560</p> <p>VDRL/RPR +++</p> <p>&gt;16</p> <p>WB IgG +++</p> <p>WB IgM +++</p>	<p>De letsels van de mucosa en de huid worden gekenmerkt door hun extreme besmettelijkheid</p>



## LATENTIESTADIUM

CHRONOLOGIE VAN DE GEBEURTENISSEN	KLINISCHE MANIFESTATIES	SEROLOGIE	OPMERKINGEN
<p>Dit stadium begint vanaf het spontaan verdwijnen of de behandeling van het laatste secundaire letsel. Cfr. de commentaren onder deze tabel.</p>	<p style="text-align: center;">Klinisch asymptomatisch</p>	<p><u>Vroege latentie:</u> resultaten vergelijkbaar met de secundaire fase</p> <p><u>Laattijdige latentie :</u></p> <p>TPHA +++ &gt; 1.280</p> <p>VDRL/RPR +++ &gt;8</p> <p>De titers kunnen, zelfs zonder behandeling, afnemen en zelfs negativeren</p> <p>WB IgG +++</p> <p>WB IgM (-)</p>	<p>De anamnese, het klinisch onderzoek, het bilan van de vroegere behandelingen en diverse onderzoeken laten toe het latentiestadium te definiëren</p>

De latentiefase wordt onderverdeeld in 2 delen: een vroege en een laattijdige latentieperiode. De eerste 12 maanden, die volgen op het verdwijnen van de letsels van de secundaire fase, vormen de vroege latentiefase. In 25% van de gevallen loopt de patiënt het risico van recidieven van syfilitische manifestaties. De periode, die daarop volgt, wordt laattijdig latentiestadium genoemd. Terwijl de seksuele overdracht weinig waarschijnlijk is tijdens de laattijdige latentiefase, kan het vrijkomen van de treponemen uit reservoirs -zoals de ganglia- en hun intermitterend verschijnen in het bloed de oorzaak zijn van de besmetting van de foetus tijdens de zwangerschap. De laattijdige latentie fase eindigt bij het verschijnen van de letsels van het tertiaire stadium.

## TERTIAIRE PERIODE OF SYMPTOMATISCH LAATTIJDIGE SYPHILIS

CHRONOLOGIE VAN DE GEBEURTENISSEN	KLINISCHE MANIFESTATIES	SEROLOGIE	OPMERKINGEN
<p>Dit stadium treedt op gedurende 5 à 15 jaar soms gedurende 10 à 20 na het begin van de ziekte</p>	<p><b>Letsels van het tegumentum</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- huidtuberkels</li> <li>- subcutaan</li> <li>- nodulair</li> </ul> <p><b>Muceuse letsels</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- mond</li> <li>- gehemelte</li> <li>- farynx</li> <li>- neustussenschot</li> </ul> <p><b>Viscerale letsels vooral cardio-vasculaires</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- aortitis</li> <li>- coronaire stenose</li> <li>- aorta aneurysma</li> <li>- nefritis</li> <li>- lever: lever met insnoeringen (cirrhose)</li> </ul> <p><b>Wisselende neurologische manifestaties</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Veralgemeende ernstige paralyse → toestand van dementie</li> <li>2. Tabes <ul style="list-style-type: none"> <li>- ataxie</li> <li>- visuele stoornissen</li> <li>- teken van Argyll – Robertson +</li> <li>- doofheid</li> <li>- diplopie</li> <li>- urinaire klachten</li> </ul> </li> </ol> <p><b>Letsels van het locomotorisch apparaat</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Botletsels verdikking van het periost (tibia in de vorm van het lemmet van een sabel)</li> <li>2. Letsels van de gewrichten, van de sereuse bursa's en van de peesscheden</li> </ol>	<p>TPHA +++ &gt; 10.240</p> <p>VDRL/RPR +++ &gt;32</p> <p>WB IgG +++</p> <p>WB IgM ( - ) of ±</p>	<p>De ernst van de klinische letsels is gebonden aan de weefseldestructie en -sclerose</p> <p>In geval van neurologische verschijnselen, de antistoffen opsporen in het CSV</p>

## INVLOED VAN DE BEHANDELING OP DE SEROLOGIE

### VROEGE FASE VAN DE SJANKER

In het vroege stadium van de sjanker remt een correcte antibioticatherapie de evolutie van de ziekte. In de meeste gevallen zullen de antistoffen niet detecteerbaar zijn, noch voor noch na de behandeling.

### PRIMAIRE FASE VAN DE SJANKER

Hier is de serologie vaak positief vóór de behandeling.

Na de behandeling kan, bij de meerderheid van de patiënten, de VDRL/RPR negativeren binnen het jaar, terwijl de TPHA positief zal blijven.

### SECUNDAIRE, LATENTE EN TERTIAIRE FASE

De serologie zal positief blijven na de behandeling. De bekomen titers geven meestal geen aanduiding over de efficiëntie van de antibioticatherapie. Nochtans, kan een meestal significante daling van de VDRL/RPR vastgesteld worden van tenminste 4 maal de begintiter, en zelfs een negativering na 1 of 2 jaar, als de infectie zich in de secundaire of vroege latentiefase bevond. Men schat dat de negativering van de VDRL/RPR na een specifieke behandeling 40% bedraagt gedurende het eerste jaar, en 75% gedurende het tweede jaar. Men kan ook zonder behandeling een spontane negativering opmerken.

In de andere gevallen zal de VDRL/RPR serologie levenslang positief blijven.

## ECHTE EN VALSE POSITIVITEIT VAN DE VDRL BIJ ANDERE PATHOLOGIEËN

De VDRL kan positief zijn bij sommige treponematosen, die verwant zijn aan syfilis, als framboesia (pian), pinta en bejel. Het betreft echt positieven. Het is nuttig de antecedenten van dergelijke ziekten te herkennen door de aanwezigheid van min of meer typische oude littekens bij personen afkomstig uit zwart Afrika of Zuid-Amerika: bijvoorbeeld knobbeltjes in dikke plakken, huidtuberkels ter hoogte van de onderste ledematen.

Een aantal pathologieën kunnen verantwoordelijk zijn voor vals positieve reacties. Sommige zijn voorbijgaand, te wijten aan bacteriële, acuut virale of parasitaire infecties (die een toename van de vernietiging van de celkernen met zich meebrengen), aan vaccinaties, immuuntherapie of zwangerschap.

De chronische vals positieve reacties persisteren na 9 maanden, meestal gedurende vele jaren of soms levenslang. Zij kunnen vastgesteld worden tijdens het verloop van auto-immuun aandoeningen of andere chronische aandoeningen die zij aan het licht brengen: zoals lupus erythematosus, collageenziekten. De VDRL kan ook positief worden bij HIV-positieve patiënten, die geen syfilis hebben.

Dr. Victor Luyasu, dokter klinisch bioloog, parasitoloog  
Travel clinic, Clinique St-Pierre, 1340 Ottignies



Figuur 6.2.1. Primaire syfilis



Figuur 6.2.2. Secundaire syfilis



Figuur 6.2.3. Secundaire syfilis

## Dankwoord

Wij bedanken Dokter Bernard Bouffieux, dermatoloog, Clinique St-Pierre in Ottignies, voor het ter beschikking stellen van de fotos met de syfilisletstels.

## REFERENTIES

1. PARIS-HAMELIN A, VAISMAN A, DEREGNAUCOURT J. - Actualités 1986 sur la syphilis. *Le Biologiste*. 1986 ; 163 :135-47.
2. PRADINAUD R, NGUEMBY-MBINA C, NDIAYE. - Les traitements antibactériens de première intention dans les maladies sexuellement transmissibles. *Méd Mal Infect*. 1986 ; 2:124-8.
3. BAKER-ZANDER S, RODDY R, HANDSFIELD P, LUKEHART S. - IgG and IgM antibody reactivity to antigens of *Treponema pallidum* after treatment of syphilis. *Sexually Transmitted Diseases* 1986; 4:214-20.
4. *Manual of Laboratory immunology*, Lea and Febiger, second edition, Philadelphia - London 1991, p. 199-201
5. YOUNG H, MOYES A, McMILLAN A, PATTERSON J. - Enzyme immunoassay for anti-treponemal IgG: screening or confirmatory test? *J Clin Pathol*. 1992; 45:37-41.
6. YOUNG H. - Syphilis : new diagnostic directions. *International J STD AIDS*. 1992; 3:391-413.
7. BIANCHI A, SEDNAOUI P, POITEVIN M, ALONSO JM. - Diagnostic biologique de la syphilis et des tréponématoses endémiques. Une nécessaire actualisation des connaissances. *Méd Mal Infect*. 1995 ; 25:1107-14.
8. YOUNG H. - Syphilis serology. *Dermatol Clin*. 1998; 4:691-8.
9. EBEL A, BACHELART L, ALONSO JM. - Evaluation of a new competitive immunoassay (BioElisa Syphilis) for screening *Treponema pallidum* antibodies at various stages of syphilis. *J Clin Microbiol*. 1998; 2:358-61.
10. WICHER K, HOROWITZ HW, WICHER V. - Laboratory methods of diagnosis of syphilis for the beginning of the third millennium. *Microbes Infect*. 1999; 12:1035-49.
11. SINGH AE, ROMANOWSKI B. - Syphilis: review with emphasis on clinical, epidemiologic, and some biologic features. *Clin Microbiol Rev*. 1999; 2:187-209.
12. SCHMIDT BL, EDJLALIPOUR M, LUGER A. - Comparative evaluation of nine different enzyme-linked immunosorbent assays for determination of antibodies against *Treponema pallidum* in patients with primary syphilis. *J Clin Microbiol*. 2000; 3:1279-82.
13. SAMBRI V, MARANGONI A, EYER C, et al. - Western Immunoblotting with five *Treponema pallidum* recombinant antigens for serological diagnosis of syphilis. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2001; 3:534-9.
14. HAGEDORN HJ, KRAMINER-HAGEDORN A, DE BOSSCHERE K et al.- Evaluation of INNO-LIA assay as a confirmatory test for syphilis. *J Clin Microbiol*. 2002; 3:973-8.
15. HOOK EW, PEELING RW. - Syphilis control, a continuing challenge. *N Eng J M*. 2004; 2:122-4
16. GEUSAU A, KITTLER H, HEIN U, DANGL-ERLACHE, STINGL G, TSCHACHLER E. B - Biological false-positive tests comprise a high proportion of Venereal Disease Research Laboratory reactions in an analysis of 300,000 sera. *Int J STD AIDS*. 2005; 11:722-6.

- 17 LAFOND RE, LUKEHART SA. - Biological basis for syphilis. *Clin Microbiol Rev.* 2006; 1:29-49.
- 18 MATTHYSSEN P, VAN WIJNGAERDEN E, LAGROU K, PEETERMANS W. - Syphilis. *Tijdschr. Voor Geneeskunde* 2006; 5:339-47

## 6.3 Borrelia

### 6.3.1. Informatie betreffende het verstuurde staal

Het staal S/6634 werd opgestuurd voor de bepaling van anti-Borrelia antistoffen vanuit didactische gronden. Het staal was immers negatief op anti-Borrelia antistoffen (bewezen door leden van het expert comité aan de hand van blottechnieken), maar bevatte anti-syfilis antistoffen. Het doel van deze EKE was om na te gaan of er kruisreacties optraden met bepaalde kits voor deze anti-syfilis antistoffen en de laboratoria vertrouwd te maken met het bestaan van deze kruisreacties.

### 6.3.2. De deelnemers

142 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 219 testen uit.

79 laboratoria voerden 1 test uit, 52 laboratoria voerden 2 testen uit, 9 laboratoria 3 testen, 1 laboratorium 4 testen en 1 laboratorium 5 testen.

De uitgevoerde testen kunnen als volgt gegroepeerd worden:

- totale antistoffen (één kit die het geheel der antistoffen bepaalt):
  - «algemene» antistofbepaling
  - bepaling van specifiek tegen het C6 proteïne gerichte antistoffen
- IgG:
  - ELISA, EIA, IFA, ELFA,...
  - blot bepalingen (immunoblot, dot blot, western blot)
- IgM:
  - ELISA, EIA, IFA, ELFA,...
  - blot bepalingen (immunoblot, dot blot, western blot)

(NB In de verdere bespreking van de verwerking zijn de ELISA, EIA, IFA, ELFA, ... technieken gegroepeerd onder de benaming «niet-blot» om de leesbaarheid te vergemakkelijken)

De verdeling van deze testen is als volgt:

- Tot. As.: 88
  - «algemeen»: 82
  - anti-C6: 6
- IgG: 66
  - «niet-blot»: 58
  - blot: 8
- IgM: 65
  - «niet-blot»: 58
  - blot: 7

De verdeling van de gebruikte testen in functie van de gebruikte technieken wordt weergegeven in tabel 6.3.1.

Tabel 6.3.1. Verdeling der gebruikte testen in functie van de techniek voor staal S/6634

Aantal testen	Aard kit	Type techniek	S/6634
1 test	Tot. As.	algemeen anti-C6	74 5
2 testen	IgG en IgM	nietblot - nietblot blot - blot	51 1
3 testen	Tot. As. en IgG en IgM	algemeen - nietblot - nietblot algemeen - blot - blot antiC6 - nietblot - nietblot	3 4 1
	IgG en IgG en IgM	blot - nietblot - nietblot	1
4 testen	IgG en IgG en IgM en IgM	nietblot - blot - nietblot - blot	1
5 testen	Tot. As. en IgG en IgG en IgM en IgM	algemeen - nietblot - blot - nietblot - blot	1



### 6.3.3. Gebruikte reagentia

#### 6.3.3.1. Voor de totale As (alle methoden samen)

Tabel 6.3.2.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van Borrelia totale As.

Fabrikant	Kit	S/6634
bioMérieux	VIDAS Lyme	78
	Lyme Spot IF	1
Immunitics (verdelers Lucron)	C6 B. burgdorferi (Lyme) ELISA	6
Virion/Serion (verdelers Labconsult)	Rapid Scope Borrelia IgG/IgM	3
Totaal		88

#### 6.3.3.2. Voor IgG (alle methoden samen)

Hoewel een aantal kits de benaming IgG+IgM vermelden, laten zij toch toe om IgG en IgM afzonderlijk te bepalen. Deze kits worden dan ook onder IgG en IgM afzonderlijk vermeld.

Tabel 6.3.3.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van Borrelia IgG.

Fabrikant	Kit	S/6634
Abbott	IMx Lyme IgG	1
Alphadia	Vir Elisa anti-Borrelia IgG/IgM	1
Dade Behring	Enzygnost Borreliosis	11
Dako	IDEIA Borrelia burgdorferi, IgG	2
Diasorin	Liaison Borrelia IgG	23
	Borrelia burgdorferi IgG Elisa	2
Euroimmun (verdelers Biognost)	Borrelia burgdorferi IgG Elisa	15
	Euroline WB IgG	6
Genbio (BMD)	Dot Blot Borrelia IgG	1
Meridian	EU Lyme IgG Western Blot	1
Mikrogem (verdelers Euribel)	recomWell Borrelia IgG	2
Virion/Serion (verdelers Labconsult)	Borrelia burgdorferi IgG Elisa	1
Totaal		66

### 6.3.3.3. Voor IgM (alle methoden samen)

Tabel 6.3.4.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van Borrelia IgM.

Fabrikant	Kit	S/6634
Abbott	IMx Lyme IgM	1
Alphadia	Vir Elisa anti-Borrelia IgG/IgM	1
Dade Behring	Enzygnost Borreliosis	11
Dako	IDEIA Borrelia burgdorferi, IgM	2
Diasorin	Liaison Borrelia IgM	23
	Borrelia burgdorferi IgM Elisa	2
Euroimmun (verdelers Biognost)	Borrelia burgdorferi IgM Elisa	15
	Western Blot IgM	6
Genbio (BMD)	Dot Blot Borrelia IgM	1
Mikrogen (verdelers Euribel)	recomWell Borrelia IgM	2
Virion/Serion (verdelers Labconsult)	Borrelia burgdorferi IgM Elisa	1
Totaal		65

### 6.3.4. Resultaten

#### 6.3.4.1. Totale antistoffen

##### 6.3.4.1.1. Algemeen

Een overzicht van de resultaten wordt gegeven in tabel 6.3.5. Opvallend is dat, op 2 laboratoria na die enkel het kwantitatieve resultaat antwoordden maar geen kwalitatieve interpretatie, alle laboratoria een positief of borderline resultaat bekwamen. Gezien uit de resultaten van de 'individuele screeningstesten (IgM en/of IgG) en vooral uit de blottesten (zowel de voorafgaandelijk door sommige van de experts als deze uitgevoerd ter gelegenheid van de enquête), gebleken is dat het staal negatief was op anti-Borrelia AS, kunnen we besluiten dat het hier kruisreacties met de anti-syfilis AS betreft; de betrokken firmas bioMérieux en Virion/Serion werden hierover gecontacteerd.

Voor de Rapid Scope Borrelia burgdorferi IgG/IgM kit, verstreekte de firma Virion/Serion volgende antwoord:

«With other methods the sample was negative. However we declare the Rapid Test as screening method and therefore it is not such astonishing that the sample is positive with this test. We really do not want to miss a patient and cross reactions with Treponema pallidum are well known for Borrelia diagnostic.»

De firma zal in de toekomst in de bijsluiter de kruisreactie met *Treponema pallidum* expliciet vermelden.

Voor de Vidas Lyme IgG and IgM kit vermeldde de firma bioMérieux dat zij in de bijsluiter de gebruikers aanraden elk positief resultaat met deze kit te controleren door het uitvoeren van een syphilis-opsporing:

«Positive results in the VIDAS Lyme IgG and IgM assay must be interpreted with caution. Cross-reactivity is frequently seen in patients with syphilis when detecting infections to *B. burgdorferi*. Clinical symptoms, epidemiological information, and other laboratory test results (such as RPR, VDRL, or TPHA) must all be considered in addition to VIDAS Lyme IgG and IgM assay results.»

Tabel 6.3.5. Resultaten van de bepaling van de algemene *Borrelia* totale antistoffen (S/6634)

Resultaat	Aantal labo's
Positief	41
Borderline	39
Geen interpretatie	2
Totaal	82

Voor zover de laboratoria het kwantitatief resultaat geantwoord hebben, hebben we mediaan, minimum en maximum voor de meest gebruikte kit (VIDAS Lyme) berekend. Deze resultaten worden weergegeven in tabel 6.3.6.

Tabel 6.3.6. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor totale antistoffen (algemeen) voor staal S/6634 voor de meest gebruikte kit (VIDAS Lyme).

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
VIDAS Lyme (index)	76	1.02	0.75	1.52

#### 6.3.4.1.2. Anti-C6

Vijf van de 6 laboratoria die deze test uitvoerden, bekwamen een negatief resultaat. Eén bekwam een positief resultaat.

## 6.3.4.2. IgG

### 6.3.4.2.1. Niet blot bepalingen

Een overzicht van de resultaten wordt gegeven in tabel 6.3.7.

Tabel 6.3.7. Resultaten van de bepaling van de «nietblot» Borrelia IgG (S/6634)

Resultaat	Aantal labos
Negatief	55
Positief	2
Borderline	1
Totaal	58

Een kwantitatieve beoordeling werd niet uitgevoerd gezien het geringe belang ervan bij negatieve resultaten.

### 6.3.4.2.2. Blot bepalingen

Zeven van de 8 laboratoria die deze test uitvoerden, bekwamen een negatief resultaat. Eén bekwam een positief resultaat.

## 6.3.4.3. IgM

### 6.3.4.3.1. Niet blot bepalingen

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat. Een kwantitatieve beoordeling werd niet uitgevoerd gezien het geringe belang ervan bij negatieve resultaten.

### 6.3.4.3.2. Blot bepalingen

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat.

#### 6.3.4.4. Beoordeling van de resultaten in functie van de uitgevoerde testen

Tabellen 6.3.8. tot en met 6.3.12. geven een overzicht weer van de resultaten in functie van de door de laboratoria uitgevoerde bepalingen (Verklaring van de afkortingen: «alg» = algemeen; «aC6»= anti-C6; «b» = blot; «nb» = niet-blot).

Tabel 6.3.8. Resultaten voor staal S/6634 voor de laboratoria die één bepaling uitvoerden.

Techniek	Resultaat			
	Positief	Borderline	Negatief	Gn. inter.
Tot.As. (alg)	36	36	-	2
Tot.As. (aC6)	1	-	4	-

Tabel 6.3.9. Resultaten voor staal S/6634 voor de laboratoria die twee bepalingen uitvoerden.

Techniek	Resultaat		
	Pos/neg	Border/neg	Neg/neg.
IgG (nb) - IgM (nb)	2	1	48
IgG (b) - IgM (b)	-	-	1

Tabel 6.3.10. Resultaten voor staal S/6634 voor de laboratoria die drie bepalingen uitvoerden

Techniek	Resultaat			
	pos/pos/neg	pos/neg/neg	border/neg/neg	neg/neg/neg
Tot.As. (alg) - IgG (nb) - IgM (nb)	-	1	2	-
Tot.As. (alg) - IgG (b) - IgM (b)	1	2	1	-
Tot.As. (aC6) - IgG (nb) - IgM (nb)	-	-	-	1
IgG (b) - IgG (nb) - IgM (nb)	-	-	-	1

Tabel 6.3.11. Resultaten voor staal S/6634 voor de laboratoria die vier bepalingen uitvoerden.

Techniek	Resultaat
	Neg/neg/neg/neg
IgG (nb) - IgG (b) - IgM (nb) - IgM (b)	1

Tabel 6.3.12. Resultaten voor staal S/6634 voor de laboratoria die vijf bepalingen uitvoerden.

Techniek	Resultaat
	Pos/neg/neg/neg/neg
Tot.As. (alg) - IgG (nb) - IgG (b) - IgM (nb) - IgM (b)	1

## 6.3.4.5. Interpretatie

### 6.3.4.5.1. Eigenlijke interpretatie

De interpretaties werden uiteraard beïnvloed door de resultaten van de uitgevoerde testen. De laboratoria die de (correcte) negatieve resultaten bekwamen met één of meerdere testen, antwoordden «Afwezigheid van antistoffen». De meerderheid van de laboratoria die een positief resultaat bekwamen (in hoofdzaak betreft dit laboratoria die totale antistoffen bepaalden), antwoordden «Aanwezigheid van antistoffen». Nochtans hebben negen laboratoria die een positief resultaat bekwamen voor de totale antistoffen «Afwezigheid van antistoffen» geantwoord; in de opmerking raadden de meesten een controle aan (via Western Blot of op een follow-up staal) of vermeldden dat de positiviteit te verklaren was door de aanwezige anti-syfilis antistoffen. Tien laboratoria wensten zich niet uit te spreken over de af-of aanwezigheid van antistoffen doch verwezen in de opmerking naar de noodzaak van controle (cfr. hoofdstuk 6.3.4.5.4.). Nog anderen antwoordden «twijfelachtig» en verwezen eveneens naar de noodzaak aan controle. Een overzicht van de interpretaties wordt weergegeven in tabel 6.3.13.

Tabel 6.3.13. Interpretaties voor staal S/6634.

Interpretatie	Aantal laboratoria
Afwezigheid van antistoffen	73
Aanwezigheid van antistoffen	53
Geen conclusie; verwijzing naar de opmerking	10
Twijfelachtig resultaat	5
Geen antwoord	1
Totaal	142

#### 6.3.4.5.2. Opmerkingen bij «Afwezigheid»

Een overzicht van de opmerkingen bij het antwoord «Afwezigheid van antistoffen» wordt weergegeven in tabel 6.3.14

Tabel 6.3.14. Opmerkingen bij het antwoord «Afwezigheid van antistoffen» voor staal S/6634.

Opmerking	Aantal laboratoria
Een bevestiging door middel van Western Blot is niet noodzakelijk	32
Geen opmerking	23
Het laboratorium heeft zelf een Western Blot uitgevoerd	8
Een opvolgingsstaal is aangewezen <sup>1</sup>	6
Kruisreactie met syfilis	2
Een bevestiging door middel van Western Blot is noodzakelijk	1
Uit de ervaring van het ref labo blijkt dat de kit van Vidas redelijk gevoelig is en dat alle equivocal stalen negatief geven in de Western blot. Een WB wordt dan ook niet meer uitgevoerd.	1
<b>Totaal</b>	<b>73</b>

<sup>1</sup> Een aantal van deze laboratoria vermeldden dat de afname van een opvolgingsstaal afhankelijk is van het al dan niet persisteren van de symptomen. Het tijdsinterval varieert tussen 2 en 4 weken.

### 6.3.4.5.3. Opmerkingen bij «Aanwezigheid»

Een overzicht van de opmerkingen bij het antwoord «Aanwezigheid van antistoffen» wordt weergegeven in tabel 6.3.15

Tabel 6.3.15. Opmerkingen bij het antwoord «Aanwezigheid van antistoffen» voor staal S/6634.

Opmerking	Aantal laboratoria
Een bevestiging door middel van Western Blot is noodzakelijk	31
Een opvolgings/controle staal is aangewezen <sup>1</sup>	5
Een bevestiging door middel van Western Blot is niet noodzakelijk	4
Een bevestiging door middel van Western Blot is noodzakelijk en Er is een mogelijke kruisreactie met syfilis	4
Geen opmerking	2
Een bevestiging door middel van Western Blot is noodzakelijk en Een opvolgingsstaal is aangewezen	1
Een bevestiging door middel van Western Blot is noodzakelijk hoewel de kliniek geen borreliose laat vermoeden	1
Er is een mogelijke kruisreactie met syfilis	1
Bevestiging door bepaling van anti-C6 aangewezen	1
Vergelijken met de kliniek	1
Resultaat van grijze zone bevestiging via WB KAN interessant zijn	1
Net positieve Borreliascreening bij patiënt met een eerder atypisch klinisch beeld en afwezige anamnese van tekenbeet. Vals positieve reactie (o.m. interferentie met EBV of syfilis) dient vooreerst uitgesloten te worden. Restwaarde na een Borrelia-infectie in een verder verleden behoort eveneens tot de mogelijkheden. Wanneer na verdere diagnostische work-up met uitsluiten van andere aandoeningen, het tentatieve vermoeden van Borrelia blijft, kunnen na overleg met de klinisch bioloog bijkomende testen op dit (of op een follow-up) staal worden uitgevoerd zoals C6-ELISA en/of immunoblot.	1
<b>Totaal</b>	<b>53</b>

<sup>1</sup> Een aantal van deze laboratoria vermeldde de twijfelachtigheid van de AS-aanwezigheid of van de kliniek. Het tijdsinterval varieert tussen 2 en 3 weken.



#### 6.3.4.5.4. Opmerkingen zonder interpretatie

Een overzicht van de opmerkingen van de laboratoria die zich niet wensten uit te spreken over de af-of aanwezigheid van de antistoffen wordt weergegeven in tabel 6.3.16

Tabel 6.3.16. Opmerkingen in geval van geen conclusie voor staal S/6634.

Opmerking	Aantal laboratoria
Een opvolgingsstaal is aangewezen	3
Een bevestiging door middel van Western Blot is noodzakelijk	2
Een bevestiging door middel van Western Blot is noodzakelijk en Er is een mogelijke kruisreactie met syfilis	2
Doorstuur naar een referentiecentrum	2
Een bevestiging door middel van Western Blot is noodzakelijk en Een opvolgingsstaal is aangewezen	1
Totaal	10

#### 6.3.4.5.5. Opmerkingen bij «twijfelachtig resultaat»

Een overzicht van de opmerkingen bij het antwoord «Twijfelachtig resultaat» wordt weergegeven in tabel 6.3.17

Tabel 6.3.17. Opmerkingen bij het antwoord «Twijfelachtig resultaat» voor staal S/6634.

Opmerking	Aantal laboratoria
Een bevestiging door middel van Western Blot is noodzakelijk	2
Een bevestiging door middel van Western Blot is noodzakelijk en Een opvolgingsstaal is aangewezen	2
Doorstuur naar een referentiecentrum en Een opvolgingsstaal is aangewezen	1
Totaal	5

#### 6.3.4. Commentaar op de resultaten van het onderzoek

Wanneer de clinicus zich geplaatst ziet voor de complexiteit van de ziekte van Lyme, heeft hij soms de neiging een positieve serologie als een voorkeurscriterium te beschouwen voor de klinische diagnose, en zelfs als een belangrijk beslissingselement voor het instellen van een antibioticatherapie. Het is dus van essentieel belang dat het resultaat van het laboratorium voorafgaandelijk gevalideerd is zodat het alle mogelijke betrouwbaarheidsgaranties kan bieden voor het «klinische» gebruik in een beslissingsboom.

Deze validatie gebeurt door een confirmatieproces zoals beschreven is door de Amerikaanse CDC en de Europese EUCALB.

Inderdaad dient elk positief resultaat dat bekomen wordt met een 1<sup>e</sup> lijnstechniek bevestigd te worden door een Western blot of immunoblot met een hoge graad van specificiteit.

In het kader van deze kwaliteitscontrole, werden de IgG en IgM negatief bevonden door de meerderheid van de gebruikers. Ze maakten vooral gebruik van 3<sup>e</sup> generatie technieken waarvan het antigene panel een bijkomend recombinant antigeen bevat, VLsE genaamd.

Een ander recombinant proteïne dat als enige antigeen door de kit gebruikt wordt is het IR6 of C6 waarvan de resultaten door 5 van de 6 gebruikers negatief bevonden werden.

De technieken die gebaseerd zijn op de polyvalente screening daarentegen bleken allen positief, waarschijnlijk het gevolg van een kruisreactie met specifieke anti-Treponema pallidum antistoffen die aanwezig waren in het serum. Hieruit blijkt de noodzaak van de gebruikers ervan om conform de internationale richtlijnen te werken, namelijk door elk positief resultaat te laten confirmeren met een Western blot of immunoblot.

Voor verdere commentaar, verwijzen wij naar het rapport over Borrelia in het globaal rapport 2005/1, ook terug te vinden op onze website op de volgende pagina: [http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external quality/rappports/ nl/rappports 2005.htm](http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external%20quality/rappports/nl/rappports%202005.htm)

Dr. Victor Luyasu, Clinique St-Pierre, Ottignies - Louvain-la-neuve

## 6.4 Toxoplasma

### 6.4.1. De deelnemers

178 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 374 testen uit.

166 laboratoria voerden 2 testen uit, 7 laboratoria 3 testen, 4 laboratoria 4 testen en 1 laboratorium 5 testen.

- 177 laboratoria voerden minstens één bepaling van IgG uit; 172 labos voerden één bepaling uit, 5 laboratoria voerden 2 bepalingen uit; in totaal werden er dus 182 IgG bepalingen uitgevoerd
- 178 laboratoria voerden minstens één bepaling van IgM uit; 170 labos voerden één bepaling uit, 8 laboratoria voerden 2 bepalingen uit; in totaal werden er dus 186 IgM bepalingen uitgevoerd
- 5 laboratoria bepaalden de IgA
- 1 laboratorium bepaalde de Toxoplasma lyse test

Tabel 6.4.1. Aantal deelnemers verdeeld per uitgevoerde parameters

Aantal testen	Type test	Aantal labo's
2 testen	IgG + IgM	165
	Toxoplasma lyse test + IgM	1
3 testen	IgG + IgM + IgM	3
	IgA + IgG + IgM	4
4 testen	IgG + IgG + IgM + IgM	4
5 testen	IgA + IgG + IgG + IgM + IgM	1
Totaal		178

## 6.4.2. Gebruikte reagentia

### 6.4.2.1 IgG

Tabel 6.4.2.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van Toxoplasma IgG

Fabrikant	Kit	S/4173
Abbott	AxSYM Toxo IgG	69
	IMx Toxo IgG	1
Bayer	Advia Centaur IgG	13
Beckman (verdelers Analis)	Access Toxo IgG	28
	LXi Toxo IgG	1
bioMérieux	VIDAS Toxo IgG II	34
	Toxo-Spot IF	3
Biorad	Platelia Toxo IgG	1
Dade Behring	Enzygnost Toxoplasmosis IgG	1
Diamedix	Toxoplasma IgG	1
DiaSorin	Liaison Toxo IgG	19
	ETI-TOXOK-G Plus	3
DPC	Immulite Toxoplasma IgG	6
Mikrogen	Recomwell Toxo IgG	1
Niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd	1
Totaal		182

### 6.4.2.2 IgM

Tabel 6.4.3.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van Toxoplasma IgM.

Fabrikant	Kit	S/4173
Abbott	AxSYM Toxo IgM	68
	IMx Toxo IgM	1
Bayer	Advia Centaur IgM	13
Beckman (verdelers Analis)	Access Toxo IgM	27
	LXi Toxo IgM	1
bioMérieux	VIDAS Toxo IgM	38
	Toxo-Spot IF <sup>1</sup>	3
Biorad	Platelia Toxo IgM	1
Biotest	Biotest/Meddens Anti-Toxoplasma IgM ELISA	1
Dade Behring	Enzygnost Toxoplasmosis IgM	1
Diamedix	Toxoplasma IgM	1
DiaSorin	Liaison Toxo IgM	19
	ETI-TOXOK-M Reverse Plus	5
DPC	Immulite Toxoplasma IgM	5
Mikrogen	Recomwell Toxo IgM	1
Niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd	1
Totaal		186

<sup>1</sup> Er dient hierbij opgemerkt dat de firma bioMérieux de Toxo-Spot IF enkel voor dosering van totale immunoglobulinen en IgG gevalideerd heeft en niet voor IgM.

### 6.4.2.3 IgA

Tabel 6.4.4.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van Toxoplasma IgA

Fabrikant	Kit	S/4173
Biorad	Platelia Toxo IgA	2
DiaSorin	ETI-TOXOK-A Reverse Plus	2
Mikrogen	Recomline Toxo IgA	1
Totaal		5

### 6.4.2.4 Voor de Toxoplasma lyse test

Het laboratorium dat deze test uitvoerde gebruikte hiervoor een in house test.

## 6.4.3. Resultaten

### 6.4.3.1 IgG

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor alle IgG bepalingen die ze uitvoerden.  
Een kwantitatieve beoordeling werd niet uitgevoerd gezien het geringe belang ervan bij negatieve resultaten.

### 6.4.3.2 IgM

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor alle IgM bepalingen die ze uitvoerden.  
Een kwantitatieve beoordeling werd niet uitgevoerd gezien het geringe belang ervan bij negatieve resultaten.

### 6.4.3.3 IgA

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat.

### 6.4.3.4 Toxoplasma lyse test

Het laboratorium dat deze test uitvoerde bekwam hiervoor een negatief resultaat.

### 6.4.3.5 Interpretatie

Alle laboratoria gaven de interpretatie «Negatieve serologie voor Toxoplasma».  
Twee laboratoria vermeldten in een opmerking wel dat enkele bijkomende testen aangewezen zouden zijn: hematologische testen, leverenzymen, EBV en CMV

serologie; één van beide laboratoria stelde tevens voor om een nieuwe afname na 2 weken uit te voeren.

#### 6.4.4. Commentaar op de resultaten van het onderzoek

De volgende klinische informatie werd verstrekt: «Een jonge vrouw klaagt van vermoeidheid en vertoont klieren.»

##### Bespreking

Het staal dat werd opgestuurd was negatief voor Toxoplasma IgG en IgM. De bedoeling was dan ook om na te gaan of er interferenties in de IgG en/of IgM assay konden aangetoond worden. Eventuele vals positieve reacties zijn eerder te verwachten in de IgM dan in de IgG assay's.

Alle labo's vonden een negatieve waarde zowel in de IgG als in de IgM assay. Voor de interpretatie van een serologisch profiel van toxoplasmose was iedereen het unaniem eens nl: negatieve serologie voor toxoplasmose.

Anne Naessens, AZ VUB, Brussel