

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 02/2006

Microbiologie

Streptococcus pneumoniae
Neisseria gonorrhoeae
Yersinia enterocolitica

Parasitologie

Ascaris lumbricoides
Blastocystis hominis
Entamoeba hartmanni
Taenia species

Serologie

HBV
HCV

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website :

http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_nl/rapports_annee.htm

COMITE VAN EXPERTEN VOOR MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE

WIV (secretariaat) : 02/642.55.22 - FAX : 02/642.56.45
(Dr. K. Vernelen) : 02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45
(Coördinator) : e-mail : kris.vernelen@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@skynet.be

I. ALGEMENE BEMERKINGEN

Voor de 2de evaluatie van het jaar 2006 (enquête 2006/2) werd volgend materiaal verzonden op 24 april 2006.

1.1. **Twee klinische en twee gelyofiliseerde monsters** voor identificatie.
Voor 2 monsters werden de resultaten van de gevoeligheidstesten gevraagd.

1.2. **Twee geformoliseerde fecesstalen** voor parasitologisch onderzoek.

1.3. **Twee plasmamonsters** voor de bepaling van HBV en HCV.

AANTAL DEELNEMERS

Het aantal evalueerbare antwoordbulletins bedroeg :

1.	Voor identificatie en antibiogram	:	192
2.	Voor de parasitologie	:	185
3.	Voor de serologie		
	HBV	:	188
	HCV	:	177

Wij danken Marc Lontie voor het ter beschikking stellen van de fotos in dit globaal rapport.

Wij wensen er de aandacht op te vestigen dat de microbiologische atlas die Marc Lontie ontworpen heeft (met fotos uit bacteriologie, mycologie en parasitologie) op onze website geplaatst werd op de pagina:

http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/ATLAS/ATLAS_NL.htm

II. IDENTIFICATIES

2.1. Cultuur M6697 en cultuur 6785

Deze beide stammen werden door meer dan 95% van de laboratoria correct geïdentificeerd als *Streptococcus pneumoniae*. Na groei op bloedagar bemerkte men kleine α -hemolytische kolonies met een negatieve katalase reactie. Stam M/6697 was perfect gevoelig voor optochine. Stam M/6785 werd evenwel rondgestuurd om aan te tonen dat zeldzame pneumokokken een intermediair resultaat hebben voor de inhibitie door optochine. De commercieel beschikbare papieren schijfjes (bioMérieux, Becton Dickinson...) hebben een lading van 5 μ g optochine (of ethylhydrocupreine hydrochloride) en een doormeter van 6mm. Voor deze schijfjes stemt - na incubatie gedurende 24 uur in een broedstoof met 5 tot 10% CO₂ - een inhibitiezone van minstens 14 mm overeen met gevoeligheid. Bij het vinden van een kleinere inhibitiezone heeft men een intermediaire gevoeligheid en bij groei tot tegen het schijfje is de stam resistent. Er werden ook zeldzame pneumokokken beschreven met resistentie tegen optochine (1). Voor Rosco-tabletjes wordt een inhibitiezone van ≥ 18 mm na incubatie in CO₂ broedstoof als positief weerhouden.

Bij stam M/6785 kon men enkele resistente kolonies vaststellen binnen de inhibitiezone zodat de stam intermediair gevoelig was voor optochine. De galsolubilitestest was echter positief en volgens de kapselzwellingsstest behoorde deze pneumokok tot de kapselgroep 6.

De American Society of Microbiology stelt dat bij rechtstreeks aanbrengen van optochine schijfjes op bloedagar geënt met een respiratoir specimen of voor uitenting van positieve hemoculturen, de identificatie bijkomend onderbouwd moet worden met microscopisch onderzoek. Bij de minste twijfel moet een nieuwe reïncultuur op bloedagar van de verdachte kolonies uitgevoerd worden met het aanbrengen van een optochine schijfje

Globaal beschouwd is en blijft het optochine schijfje een excellente eenvoudige test om pneumokokken te differentiëren van andere viridans streptokokken. De sensitiviteit is nagenoeg 99% en de specificiteit meer dan 98% (2).

Beide stammen vertoonden eveneens een duidelijk positieve agglutinatie-test met Slidex® pneumo-kit (bioMérieux). Deze test is betrouwbaar op voorwaarde dat ze correct uitgevoerd wordt en men dus uitsluitend rekening houdt met een duidelijke agglutinatie. Een ander hulpmiddel om de identificatie van pneumokokken met een twijfelachtige optochinetest te bevestigen is het uitvoeren van een galsolubilitestest. Het principe van deze test bestaat uit het lyseren van pneumokokken in contact met een 10% Na-desoxycholaat oplossing. Ook Dreft detergent kan voor deze toepassing gebruikt worden. In 1 ml steriel fysiologisch water maakt men een suspensie van de streptokok met een troebel van 1 McFarland. De suspensie wordt daarna verdeeld in 2 smalle proefbuisjes. Aan het testbuisje voegt men daarna 3 tot 4 druppels 10% Na-desoxycholaat of Dreft toe. Aan het controlebuisje 3 tot 4 druppels fysiologisch water. Daarna incubeert men de buisjes gedurende 2 uur op 36°C. Opheldering van de suspensie in het testbuisje wordt als een positieve test beoordeeld.

Ook het rechtstreeks aanbrengen van het reagens op kolonies op de bloedagar bodem is een bruikbare uitvoering (3).

Door al de laboratoria werd stam M/6697 geantwoord als gevoelig voor penicilline en derde generatie cefalosporines en resistent tegen erythromycine. Voor de keuze van

het antibioticum dat binnen de groep van de derde generatie cefalosporines uitgetest moet worden, genieten cefotaxime en ceftriaxone de voorkeur. Enkele laboratoria hebben ook andere cefalosporines uitgetest en het resultaat vermeld (zie tabel 2.1.): ceftazidime (14x), ceftizoxime (5 x) en cefalosporine (4 x). Deze antibiotica zijn een minder goede keuze voor de behandeling van een pneumokokkeninfectie en mogen dus niet gerapporteerd worden.

Tabel 2.1.: Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Résultat attendu	Total	S	I	R
Penicilline	S	190	189	1	-
Erythromycine	R	187	1	8	178
Clarithromycine	R	3	-	-	3
Tetracycline	R	150	30	27	93
Doxycycline		25	22	-	3
Minocycline		3	1	1	1
Cefalosporine 3 ^{de} generatie					
Cefotaxime	S	88	88	-	-
Ceftazidime	S	14	14	-	-
Ceftizoxime	S	5	5	-	-
Ceftriaxone	S	55	55	-	-
Cefepime	S	2	2	-	-
«Cefalosporine»	S	4	4	-	-
Chinolones					
Ciprofloxacin		28	12	6	10
Levofloxacin		59	54	4	1
Moxifloxacin		58	58	-	-
Norfloxacin		6	-	-	6
Ofloxacin		35	13	18	4
Gatifloxacin		1	1	-	-
Sparfloxacin		1	1	-	-
Oxolinezuur		1	-	-	1
«Chinolone»		4	4	-	-

Voor tetracycline hebben we zeer wisselende resultaten bekomen afhankelijk van de gebruikte techniek.

Tabel 2.2. :

	Aantal gebr.	Lading	Mediane diameter	Grenswaarde diameter	Aantal deelnemers met resultaat		
					S	I	R
Tetracycline (CLSI)	35	30	19	14-22	2	18	15
ROSCO	44	80	28	17-31	27	11	6
VITEK 2	43	-	-	-	-	-	43

Het besluit is dat de resultaten voor tetracycline onbetrouwbaar zijn. Meer dan 61% en 25% van de Rosco gebruikers catalogeren de stam als gevoelig en intermediair gevoelig respectievelijk. Omwille van de slechte resultaten met Rosco Neosensitabs werd de stam ter controle verstuurd naar Rosco Diagnostica A/S. Door de producent werd de stam uitgetest en na groei op Mueller-Hinton agar en incubatie gedurende 20 tot 24

uur in een met CO₂ aangerijkte atmosfeer werd een inhibitiezone van 21 mm (intermediair/resistent) afgelezen. Het groot aantal foutieve gevoelige resultaten wordt door de producent verklaard door het feit dat deze deelnemers geen rekening hielden met de aanwezigheid van kleine kolonies, die slechts verschijnen na incubatie gedurende 20 - 24 uur. Volgens de richtlijnen moet men ook rekening houden met deze kleine kolonies.

Ondanks deze verheldering en verklaring van het bedrijf Rosco, kunnen we vaststellen dat door meer dan 90% van de gebruikers van de papieren schijfjes de stam correct werd geïnterpreteerd. De 43 Vitek 2 gebruikers rapporteerden eveneens de stam als resistent tegen tetracycline.

Afhankelijk van het gekozen fluorochinolone bekwam men voor de stam een ander resultaat.

Tabel 2.3. :

	Papieren schijfjes				ROSCO				Vitek 2			
	Aantal	S	I	R	Aantal	S	I	R	Aantal	S	I	R
Ciprofloxacin	7	2	1	4	16	10	3	3	-	-	-	-
Levofloxacin	5	4	1	-	17	16	0	1	16	16	0	0
Ofloxacin	9	3	6	-	17	7	8	2	8	3	4	1
Moxifloxacin	10	10	-	-	18	18	-	-	23	23	0	0

Met de E-test werden in het referentielaboratorium de volgende MIC waarden afgelezen: ciprofloxacin (16 mg/L), levofloxacin (3 mg/L), ofloxacin (6 mg/L) en moxifloxacin (0.38 mg/L). Deze resultaten zijn een mooie illustratie van de activiteit van fluorochinolones tegen *Streptococcus pneumoniae*. Ciprofloxacin en ofloxacin zijn de minst actieve preparaten, terwijl moxifloxacin het meest actieve thans beschikbare fluorochinolone is voor de behandeling van pneumokokkeninfecties. De Société Française de Microbiologie (SFM) raadt aan in routine verminderde gevoeligheid voor fluorochinolones op te sporen met een norfloxacin-disc (5µg). Bij het vinden van een inhibitiezone van <10 mm (of een MIC van > 16 mg/L) bestaat er: «un risque élevé de sélection in vivo de mutants résistants aux fluoroquinolones et échec clinique». In dezelfde richtlijnen vindt men ook de criteria voor levofloxacin en moxifloxacin. De overige fluorochinolones worden niet vermeld in dit document (4).

CLSI richtlijnen van 2006 vermelden criteria voor de volgende fluorochinolones: gatifloxacin, gemifloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, ofloxacin en sparfloxacin; maar niet voor norfloxacin en ciprofloxacin. Al de fluorochinolones horen volgens de CLSI thuis in de B categorie waarvan de definitie luidt: «Group B represents agents that may warrant primary testing but which should be reported only selectively, such as when the organism is resistant to penicillin, erythromycin and trimethoprim-sulfamethoxazole.» (5).

De uitvoering van het antibiogram voor stam M/6785 leverde geen speciale problemen op. Zonder uitzondering werd deze stam als gevoelig voor penicilline, amoxicilline, derde generatie cefalosporines en macroliden gerapporteerd. Ook de resistentie tegen fluorochinolones (inclusief moxifloxacin) werd zonder uitzondering gerapporteerd.

De antibacteriële activiteit van een fluorochinolone wordt bepaald door zijn mogelijkheid om het DNA-gyrase en/of topoisomerase IV te neutraliseren. DNA-gyrase is meestal het doelwit enzyme bij gramnegatieven en het topoisomerase IV bij grampositieven. Spontane mutaties treden op in de subunits van het DNA-gyrase (*gyrA* en *gyrB*) en/of van het topoisomerase IV (*parC* en/of *parE*). Bij pneumokokken resulteren mutaties in

het *parC* tot intermediaire resistentie tegen norfloxacin, ciprofloxacin, ofloxacin en levofloxacin. Mutaties in het *gyrA* vertalen zich in intermediaire resistentie tegen gatifloxacin en sparfloxacin. Deze beide antibiotica worden echter niet geïmplementeerd in België (omwille van nevenwerkingen). Volledige resistentie tegen fluorochinolones is meestal het gevolg van mutaties in beide doelwit enzymen. De superieure activiteit van moxifloxacin berust op het feit dat dit fluorochinolone zowel op het DNA-gyrase als op het topoisomerase IV aangrijpt (6, 7). Resistentie gebaseerd op efflux is eveneens beschreven maar wordt voorlopig zelden gerapporteerd in fluorochinolone-resistente pneumokokken (6). Voorlopig is resistentie tegen fluorochinolones geen belangrijk probleem in België. Volgens de cijfers van het referentielaboratorium waren in 2006 nagenoeg 1% van de pneumokokken uit hemoculturen resistent tegen ofloxacin. Een recente publicatie uit Italië toont echter een resistentiepercentage van 5.6% voor levofloxacin (8).

Stam M/6785 werd geïsoleerd uit het sputum van een bejaarde man met gekende COPD problematiek die door zijn huisarts behandeld werd met moxifloxacin. Volgens de huidige richtlijnen in België is moxifloxacin uitsluitend geïndiceerd voor de behandeling van ernstige lage luchtweginfecties met *S. pneumoniae* indien: (i) de stam resistent is tegen penicilline met MIC waarden > 4 mg/L en/of (ii) er gedocumenteerde allergie bestaat tegen penicilline.

Het voorkomen in België van dergelijke moxifloxacin resistente stammen is voor de laboratoria een aansporing om een antibiogram voor fluorochinolones uit te voeren. Meestal zullen stammen met resistentie tegen levofloxacin wel gevoelig zijn voor moxifloxacin. Maar indien men overweegt om een ernstige levofloxacin resistente pneumokokkeninfectie te behandelen met moxifloxacin moet de activiteit van het antibioticum bevestigd worden. Deze stam was echter gevoelig voor penicilline en amoxicilline. Dit laatste antibioticum was waarschijnlijk voor deze patiënt een veel betere keuze geweest. Igv penicilline allergie behoren vancomycine en linezolid tot de bruikbare alternatieven.

J. Verhaegen, UZ Gasthuisberg en K. Vernelen, WIV, Brussel

REFERENTIES

1. Pikis A, Campos JM, Rodriguez WJ, Keith JM. Optochin resistance in *Streptococcus pneumoniae*: mechanisms, significance and clinical implications. *J Infect Dis*, 2001, 184: 582-590.
2. *Clinical Microbiology Procedures Handbook* ASM, Isenberg second edition, 2004: 3.17.38.
3. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, Isenberg, 1992, volume 1: p 1.20.19.
4. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, Communiqué 2006 (janvier), Pr. C.J. Soussy, Créteil.
5. CLSI, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement, 2006, volume 26, n°3.
6. Schurek KN, Adam HJ, Siemens CG, Hoban CJ, Hoban DJ, Zhanel GG. Are fluoroquinolone-susceptible isolates of *Streptococcus pneumoniae* really susceptible? A comparison of resistance mechanisms in Canadian isolates from 1997 and 2003. *JAC* 2005, 56: 769-772.
7. Pletz MWR, Shergill AP, McGee L, Beall B, Whitney CG, Klugman KP. Prevalence of first-step mutants among levofloxacin-susceptible invasive isolates of *Streptococcus pneumoniae* in the United States. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50: 1561-1563.
8. Deshpande LM, Sader HS, Debbio E, Nicoletti G, Fadda G, Jones RN. Emergence and epidemiology of fluoroquinolone-resistant *Streptococcus pneumoniae* strains from Italy: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2001-2004). *Diagn Microbiol Infect Dis* 54, 2006: 157-164.

2.2. Cultuur M/6832 *Yersinia enterocolitica* biotype 2 serotype O: 9

Het geslacht *Yersinia* maakt deel uit van de *Enterobacteriaceae* en omvat hoofdzakelijk 3 pathogene species: *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* (deze 2 vormen op taxonomisch vlak slechts 1 enkele species) en *Y. enterocolitica*. Hiernaast zijn er vele verwante species van *Y. enterocolitica* beschreven, die oorspronkelijk «*Y. enterocolitica*-like organisms» genoemd werden: *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii*, *Y. bercovieri*, *Y. mollaretii*, *Y. aldovae* en *Y. rohdei*. Deze moeten worden onderscheiden van *Y. enterocolitica* aangezien zij niet hetzelfde klinisch belang hebben en overal voorkomen. *Y. enterocolitica* veroorzaakt enteritis, voornamelijk bij jonge kinderen, evenals pseudo-appendicitis syndromen die de uiting zijn van een mesenterische adenitis of een terminale ileitis. In zeldzame gevallen kan deze kiem een sepsis veroorzaken bij cirrotische patiënten of bij ijzer overbelasting; er werd eveneens een niet te verwaarlozen aantal post-transfusionele sepsissen gerapporteerd. Tenslotte kunnen soms ook niet-invasieve complicaties, als een reactieve artritis of een erythema nodosum, vastgesteld worden. *Y. enterocolitica* omvat 6 biotypen en multiële serotypen. Zoals de aanverwante species komt biotype 1^A overal voor en is het niet-pathogeen. De biotypen 1^B tot 5 bezitten virulentiefactoren, waaronder het plasmide pYV dat bijdraagt tot het invasief vermogen, en zijn dus potentieel pathogeen. In België komen de biotypen 4 / serotype O: 3 en 2 / serotype O: 9 het meest voor. Het serotype O: 3 is het voornaamste. Het biotype 2 / serotype O: 5,27 wordt zelden geïsoleerd. Het biotype 1^B dat hoofdzakelijk de stammen van het serotype O: 8 omvat, komt vooral in Noord-Amerika voor maar werd ook reeds elders opgemerkt.

Sinds het einde van de jaren 80 is het aantal in België geïnteriseerde pathogene stammen spectaculair gedaald: van meer dan 1000 stammen per jaar tot ± 300 momenteel. Een goed gedocumenteerd reservoir van de stammen van biotype 4/O:3 is varkensvlees en Tauxe et al. hebben een correlatie vastgesteld tussen infecties door *Y. enterocolitica* en de consumptie van rauw varkensgehakt.

Bacteriologisch onderzoek.

Y. enterocolitica heeft de eigenschap om beter te groeien bij 30°C dan bij 37°C en vertoont een grotere biochemische activiteit bij een temperatuur beneden de 30°C, in het bijzonder wat betreft de reactie van Voges Proskauer die negatief is bij 37°C en, in mindere mate voor andere reacties die trager verlopen bij 37°C.

Indien de incubatie van de stoelgangstalen niet kan gebeuren op de ideale temperatuur van 30°C, kan men de culturen na een klassieke incubatie op 37°C een extra dag bewaren op kamertemperatuur. De meest gebruikte selectieve bodem is de CIN, maar de kiem kan eveneens teruggevonden worden op de meer klassieke bodems voor coprocultuur zoals SS of DCL. Men mag geen bodems gebruiken die sacharose bevatten zoals de Hektoen bodem, vermits de kiem sacharose positief is.

De identificatie met commerciële systemen voldoet over het algemeen maar de verwante species kunnen problemen opleveren. Met name *Y. bercovieri*, de tweede meest voorkomende in de stoelgang na *Y. frederiksenii*, wordt systematisch geïdentificeerd als *Y. enterocolitica*. Indien men gebruik maakt van de klassieke testen zijn belangrijke elementen: urease, de afwezigheid van deaminase, de vergisting van sacharose en de decarboxylatie van ornithine.

Het is noodzakelijk de niet-pathogene stammen (de verwante species en *Y. enterocolitica* biotype 1^A) te onderscheiden van de pathogene biotypen (bij ons vooral de biotypen 2 en 4). Hiervoor worden 2 testen voorgesteld: de stammen die esculine en/of pyrazinamidase + zijn, zijn niet-pathogeen, daarentegen deze die esculine en pyrazinamidase negatief zijn, behoren tot de pathogene biotypen. In routine wordt het opsporen van pyrazinamidase zelden uitgevoerd. Dit betekent dat esculine een eenvoudige manier blijft om, naast enkele aanverwante species, de stammen van biotype 1^A (de

meeste voorkomende niet-pathogene stammen in de coproculturen) uit te sluiten. De stam die in de enquête verstuurd werd, behoorde tot biotype 2 en vertoonde de kenmerken die in onderstaande tabel beschreven worden: ze was esculine negatief, produceerde indol, vooral beneden de 30°C en vergistte xylose.

De bepaling van het serotype heeft voornamelijk epidemiologische doeleinden. Desalniettemin, wordt het gegeven dat een stam behoort tot één van de serotypen O: 3, O: 9 of O: 8 vaak gebruikt als een bevestiging van de identificatie. Dit heeft echter slechts een relatief belang aangezien deze antigene factoren aangetroffen kunnen worden bij biotype 1^A of de verwante species. Dit voorbehoud is vooral belangrijk in de voedingsbacteriologie, waar niet-pathogene stammen met een grote frequentie aangetroffen worden.

Y. enterocolitica ontwikkelen 2 β -lactamases die hun resistent maken tegen de verschillende penicillines (ampicilline, ticarcilline, ...) en de cefalosporines van de 1^e generatie. Ze zijn daarentegen gevoelig voor de cefalosporines van de 3^e generatie, de tetracyclinen, de aminosiden en de fluorochinolonen.

Biotypen van *Yersinia enterocolitica*.

	1 ^A	1 ^B	2	3	4	5
Esculine	+	-	-	-	-	-
Pyrazinamidase	+	-	-	-	-	-
Tween 80	+	+	-	-	-	-
Indol	+	+	(+)	-	-	-
Xylose	+	+	+	+	-	V
Trehalose	+	+	+	+	+	-

Prof. G. Wauters, UCL, Brussel

2.3. Cultuur M/6899 *Neisseria gonorrhoeae*

Gonokokken zijn Gram-negatieve diplokokken, van alle Neisseriae zijn gonokokken de moeilijkste groeiers: voor isolatie is een rijke voedingsbodem vereist op basis van bloed of hemoglobine en supplementen als o.a. glucose, enzymen, vitamines, en aminozuren (aanwezig b.v. in IsoVitalex of Vitox). De temperatuur mag beperkt schommelen tussen 35 en 37°C, de atmosfeer moet voldoende vochtig zijn en verrijkt met CO₂.

Voor monster afname bij de patiënt wordt een wisser gebruikt die ofwel onmiddellijk aan het laboratorium wordt bezorgd ofwel in een transportmedium naar het laboratorium wordt gestuurd. Een transportmedium op basis van actieve koolstof (b.v. Amies) is meest geschikt: na 6 uren overleven bijna alle kiemen, na transport van 12 uren is het gevoeligheidsverlies minimaal, transportduur langer dan 24 uren geeft belangrijk gevoeligheidsverlies en kan zelfs leiden tot vals negatieve cultuur.

Voor urethritis bij mannen kan een Gramkleuring volstaan voor een correcte diagnose: de specificiteit van een rechtstreeks microscopisch onderzoek is zo hoog dat bijkomende identificatie niet strikt nodig is, de gevoeligheid van cultuur is bij symptomatische mannen nauwelijks hoger. Voor opsporen van gonokokken bij asymptomatische mannen is cultuur aangewezen; ook voor het opsporen van gonokokken in extragenitale monsters is cultuur noodzakelijk.

Bij vrouwen is de diagnose van gonorrhoe moeilijker. Een Gramkleuring kan zeker niet worden aanbevolen omwille van de extreem lage gevoeligheid, een Gramkeuring kan ook een vals positief resultaat geven. Men is verplicht een cultuur uit te voeren op verse voedingsbodems, selectief gemaakt door toevoegen van bepaalde antimicrobiële producten (platen ouder dan 2 weken verliezen sterk aan gevoeligheid). Als «typische» kolonies bevestigd worden door Gramkleuring, oxidase en/of katalase is zulke identificatie voldoende betrouwbaar voor monsters uit de genitale tractus.

Voor extragenitale monsters (man en vrouw) moet een voorlopige identificatie geconfirmeerd worden met bijkomende testen (suikers, enzymen, monoklonale antistoffen). Commerciële identificatiekitjes die de suikerverzuring- en biochemische testen bevatten zijn op de markt beschikbaar. Spijtig genoeg wordt er steeds meer melding gemaakt van *N. gonorrhoeae* stammen die afwijken van deze klassieke identificatietesten. De meest specifieke test is de agglutinatietest met monoklonale antistoffen en kan worden uitgevoerd ter bevestiging van *Neisseria gonorrhoeae* uit zowel genitale als extra-genitale monsters.

Advies over antibiogram is delicaat. Het uitvoeren van een betrouwbaar schijfjes-antibiogram is uiterst moeilijk, quasi onmogelijk in een diagnostisch laboratorium, zeker voor individuele patiënten, misschien doenbaar in grotere (SOA) centra waar dagelijks meerdere gevallen van gonorrhoe gezien worden. Om te voldoen aan de richtlijnen van het 'Clinical and Laboratory Standards Institute' (CLSI) of van het 'Comité de l'antibiogramme' (CA-SFM) moet men voor een schijfjes-antibiogram vers bereide GC agar platen gebruiken die een specifiek groeisupplement bevatten (b.v. aanwezig in IsoVitalex) zonder toevoeging van bloed of hemoglobine. Chocoladeagar geeft onjuiste inhibitiezones en wordt dus afgeraden.

Voor ieder lot moet validatie gebeuren en meerdere controlestammen moeten telkens mee getest worden.

De richtlijnen van de 'Société Française de Microbiologie' vindt men op de website:

<http://www.sfm.asso.fr>

De richtlijnen van de CLSI worden beschreven in een documentje van de CDC te vinden op volgend adres <http://www.cdc.gov/std/Gonorrhea/arg/B88-Feb-2005.pdf>. Hetzelfde document beschrijft het gebruik van het controlepaneel voor gevoeligheidstesting, het paneel kan besteld worden bij de CDC zelf.

Het lijkt meer relevant en aangewezen om voor behandeling van gonorrhoe nationale of internationale richtlijnen te volgen, enkele richtlijnen zijn opgenomen in bijlage 2. Antimicrobiële gevoeligheidsbepaling van gonokokken is in vele landen een typische opdracht voor een nationaal referentielaboratorium waar meer mogelijkheden bestaan om standaard referentie technieken te gebruiken om grote aantallen representatieve gonokokken isolaten te testen. Alleen zo kunnen resistentie trends betrouwbaar gevolgd worden. Feedback van de bekomen resultaten zal leiden tot betere behandelingsrichtlijnen dan de informatie van minder betrouwbare individueel uitgevoerde antibiogrammen.

In 2005 waren alle gonokokken isolaten, getest in het referentielaboratorium, gevoelig aan derde-lijns-cefalosporines en spectinomycine. Meer dan 50% isolaten waren resistent tegen ciprofloxacine, meer dan 40% waren resistent tegen tetracycline en ongeveer 20% waren resistent tegen penicilline. Volgens aanbevelingen van WGO en CDC wordt het gebruik van een antibioticum afgeraden als meer dan 5% van de isolaten resistent zijn.

De penicilline resistentie was grotendeels te wijten aan de aanwezigheid van het beta-lactamase producerende plasmide (nitrocefine test positief), maar toch was voor 1/3 van de stammen de resistentie chromosomaal (nitrocefine test negatief). Op basis van de nitrocefine test alleen kan men dus niet besluiten of de stam wel degelijk gevoelig is aan penicilline.

De gonokok opgestuurd voor deze enquête was intermediair gevoelig voor penicilline (MIC: 0.5 mg/l), resistent tegen tetracycline (MIC: 2.0 mg/l), ciprofloxacine (MIC: 32.0 mg/l) en azithromycine (MIC: \geq 1.0 mg/l) en gevoelig voor spectinomycine (MIC: 16.0 mg/l) en ceftriaxone (MIC: 0.015 mg/l). De stam bevat geen beta-lactamase producerende plasmide.

De stam bevat eveneens geen Tet M - plasmide, de tetracycline resistentie is dus chromosomaal. Stammen die een plasmide gemedieerde tetracycline resistentie vertonen hebben meestal ook een hogere MIC waarde (\geq 8 mg/l). De hoge resistentie aan ciprofloxacine is het gevolg van 2 puntmutaties in de subunit A van het DNA gyrase (GyrA) en 2 puntmutaties in de ParC subunit van het topoisomerase IV.

Stammen met mutaties in beide subunits zijn sterker resistent aan fluorochinolones. Deze gonokok bezit het 2.6 Mda cryptisch plasmide. Normaliter bezitten alle gonokokken het cryptisch plasmide, maar nu worden echter meer en meer meldingen gemaakt van gonokokken die het plasmide missen. Dit gegeven is belangrijk bij de keuze van een eventuele amplificatietechniek voor gonokokken, het is namelijk niet aangeraden een amplificatietechniek te gebruiken die als target het cryptisch plasmide heeft.

Moleculaire amplificatietechnieken voor het opsporen van *N. gonorrhoeae*, vaak gecombineerd met de detectie van *C. trachomatis*, zijn op de markt.

De laboratoria die de stap zetten naar deze moderne techniek dienen rekening te houden met het volgende. De gevoeligheid van de techniek ligt hoger dan de kweekmethode, maar is echter onvoldoende (45-65%) indien urine van vrouwen wordt getest. Urine van vrouwen is echter wel zeer geschikt voor het opsporen van *C. trachomatis*.

Het grootste probleem is de specificiteit, elke commerciële kit detecteert ook andere Neisseriae. Het is daarom aangeraden om elk positief resultaat te bevestigen met een tweede amplificatie van een verschillend target, wat voor de meeste laboratoria niet mogelijk is.

Bijlage 1: Overzicht breekpunten MIC waarden (mg/l)

	Gevoelig	Intermediair	Resistent
Penicilline	≤ 0.06	(0.125-1)	≥ 2
Ciprofloxacine	≤ 0.06	(0.125-0.5)	≥ 1
Tetracycline	≤ 0.25	(0.5-1)	≥ 2
Ceftriaxone	≤ 0.25	-	-
Spectinomycine	≤ 32	64	≥ 128
Azithromycine		≤ 0.5	≥ 1

Bijlage 2: Overzicht richtlijnen voor behandeling

1. CDC STD guidelines, 2006
GEEN CHINOLONES voor de behandeling van patiënten met gonorrhoe in Hawaii, California, voor patiënten komende uit Azië en de Pacific. Niet voor de behandeling van homoseksuele mannen.

Voor de behandeling van ongecompliceerde genitale gonorrhoe worden volgende antibiotica voorgesteld:
Ceftriaxone 125 mg IM, enkelvoudige dosis
Cefixime 400 mg oraal, enkelvoudige dosis
Ciprofloxacine 500mg oraal, enkelvoudige dosis
Ofloxacin 400 mg oraal, enkelvoudige dosis
Levofloxacin 2 g IM, enkelvoudige dosis
2. European STD Guidelines, 2001
Voor de behandeling van ongecompliceerde genitale gonorrhoe worden volgende antibiotica voorgesteld:
Ceftriaxone 250 mg IM, enkelvoudige dosis
Ciprofloxacin 500mg oraal, enkelvoudige dosis
Ofloxacin 400 mg oraal, enkelvoudige dosis
Cefixime 400 mg oraal, enkelvoudige dosis
Spectinomycin 2 g IM, enkelvoudige dosis
3. Nederlandse richtlijnen, 2006
Voor de behandeling van ongecompliceerde genitale gonorrhoe worden volgende antibiotica voorgesteld:
Ceftriaxone 250-500 mg IM, enkelvoudige dosis
Cefotaxim 1 g IM, enkelvoudige dosis
Cefixime 400 mg oraal, enkelvoudige dosis
Cefuroxime axetil 2 x 1000 mg oraal
4. Sanford guidelines, 2005- 2006
Voor de behandeling van ongecompliceerde genitale gonorrhoe worden volgende antibiotica voorgesteld:
Ciprofloxacin 500 mg oraal, enkelvoudige dosis
Spectinomycine 2 g IM, enkelvoudige dosis
Ceftriaxone tot 1 g IM, enkelvoudige dosis

5. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, 2005
Voor de behandeling van ongecompliceerde genitale gonorrhoe worden volgende antibiotica voorgesteld:
Ceftriaxone 250-500 mg IM, enkelvoudige dosis
Cefixime 400 mg oraal, enkelvoudige dosis
Spectinomycine 2 g IM, enkelvoudige dosis
Ciprofloxacin 500 mg oraal, enkelvoudige dosis

Bijlage 3: Opsturen van gonokokken isolaten naar referentielaboratorium

Voor transport van gonokokken naar het referentielaboratorium raden wij aan een subcultuur van het isolaat te enten op een bloedagar op zondag of maandag en op te sturen na groei van maximaal 20 u (enkel posten op maandag of dinsdag, als 1 of 2 dagen later een feestdag is wacht men beter een week). Als dit advies wordt gevolgd overleven 100% van de isolaten; de overlevingskansen verminderen sterk bij gebruik van chocoladeagar en na transportduur van meer dan 1 dag.

Gonokokken worden meestal gekweekt op specifieke selectieve voedingsbodems. Het gebeurt regelmatig dat op deze voedingsbodems andere bacteriën uit het klinisch monster overleven (er hoeft niet altijd kolonievorming aanwezig te zijn). Alvorens identificatie en eventueel betalactamase-testing uit te voeren is het aan te raden eerst een subcultuur uit te voeren op een niet-selectieve chocolade- of bloedagar. Gonokokken groeien veel trager op bloedagar dan op chocoladeagar, maar daarom overleven ze ook langer op bloedagar.

Eddy Van Dyck, Tania Crucitti, Referentielaboratorium *Neisseria gonorrhoeae*
Departement Microbiologie, Instituut voor Tropische Geneeskunde Antwerpen

III. RESULTATEN VAN DE IDENTIFICATIES (N=192)

De correcte of aanvaardbare resultaten zijn onderlijnd

3.1. Cultuur M/6697 *Streptococcus pneumoniae* (paravertebraal abces)

<u><i>Streptococcus pneumoniae</i></u>	190 (99.0%)
<i>Streptococcus mitis</i>	1
<i>Streptococcus sanguis</i>	1

3.2. Cultuur M/6785 *Streptococcus pneumoniae* (sputum)

<u><i>Streptococcus pneumoniae</i></u>	184 (95.8%)
<i>Streptococcus mitis</i>	1
<i>Streptococcus sanguinis</i>	1
<i>Streptococcus oralis</i>	1
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	1
Geen pathogenen	2
Geen pathogenen (<i>Streptococcus mitis</i>)	1
Wordt doorgestuurd	1

Opmerking: 9 laboratoria hebben expliciet de optochine resistentie van deze kiem vermeld

3.3. Cultuur M/6832 *Yersinia enterocolitica* (stoelgang)

Opmerking: dit staal bevatte ook *E. coli* als commensaal

<u><i>Yersinia enterocolitica</i></u>	132 (68.8%)
<u><i>Yersinia enterocolitica</i> groep</u>	10 (5.2%)
<u><i>Yersinia enterocolitica</i> serotype 09</u>	23 (12.0%)
<u><i>Yersinia enterocolitica</i> biotype 2 serotype 09</u>	2 (1.0%)
<u><i>Yersinia species</i></u>	21 (10.9%)
<i>Yersinia enterocolitica</i> + <i>E. coli</i>	1
<i>Yersinia enterocolitica</i> + <i>E. coli</i> O157 H7	1
Wordt doorgestuurd	1
Geen antwoord	1

3.4 Cultuur M/6899 *Neisseria gonorrhoeae* (genitale wisser)

Opmerking: dit staal bevatte ook lactobacillen als commensalen

Uit de resultaten is gebleken dat (ondanks de nodige voorzorgen en controles) deze kiem in vele gevallen nadelige gevolgen ondervonden heeft van het transport, waardoor een groot aantal laboratoria er niet in geslaagd zijn deze kiem aan het groeien te brengen. De resultaten van dit staal zullen niet in aanmerking genomen worden voor de evaluatie van de laboratoria.

<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	15
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> + <i>Lactobacillus species</i>	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> + <i>Gemella morbillorum</i>	1
Afwezigheid van pathogenen/commensale flora	60
Afwezigheid van pathogenen/commensale flora (<i>Lactobacillus sp.</i>)	30
Afwezigheid van pathogenen/commensale flora (<i>L. acidophilus</i>)	9
Afwezigheid van pathogenen/commensale flora (<i>L. vaginalis</i>)	1
Afwezigheid van pathogenen/commensale flora (Gram + staven)	1
<i>Lactobacillus species</i>	17
<i>Lactobacillus species</i> , onduidelijke pathogeniciteit	1
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	12
<i>Lactobacillus species</i> + <i>C. albicans</i>	1
<i>Lactobacillus species</i> + <i>S. alactolyticus</i>	1
<i>Neisseria subflava</i> + <i>Lactobacillus species</i>	1
Gram positieve staven in kettingen	1
Gram positieve staven vancomycine-gevoelig	1
Gram positieve staven, geen lactobacillen	1
Gram positieve staven	3
Gram positieve diplococci, geen groei	1
<i>Actinomyces israelii</i>	4
<i>Actinomyces species</i>	3
<i>Actinomyces pyogenes</i>	1
<i>Actinomyces turicensis</i>	1
<i>Chlamydia trachomatis</i>	2
<i>Clostridium perfringens</i>	1
<i>Corynebacterium renale</i> groep	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1
<i>Gemella morbillorum</i>	2
<i>Lactococcus garvieae</i>	3
<i>Lactococcus lactis</i> spp. <i>cremoris</i>	1
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2
<i>Streptococcus cristatus</i>	1
<i>Streptococcus equinus</i>	1
Wordt doorgestuurd	2
Geen antwoord	8

Opmerking: 1 laboratorium heeft de *N. gonorrhoeae* via PCR geïdentificeerd

IV. ANTIBIOGRAM

Een algemeen overzicht van de resultaten wordt gegeven bij het begin van de bespreking. In de verdere verwerking worden de resultaten geanalyseerd naargelang methode. Het type antibiogram werd opgesteld door verschillende experts.

4.1. Cultuur M/6697 (*S. pneumoniae*)

Aantal deelnemers = 192

Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid met meer dan 1 methode.

Niet alle deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor alle antibiotica. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor meer dan één chinolone en/of cefalosporine. Eén laboratorium antwoordde geen resultaten voor de 3^e generatie cefalosporines: het vermeldde dat de diffusietesten hiervoor niet aangeraden worden (en het labo beschikt niet over testen voor bepaling van de MIC voor deze antibiotica). 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/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Resultaat Verwachte	Totaal aantal labo's	S	I	R
Penicilline ¹	S	190	189	1	-
Erythromycine	R	187	1	8	178
Clarithromycine ²	R	3	-	-	3
Tetracycline	R	150	30	27	93
Doxycycline ³		25	22	-	3
Minocycline ³		3	1	1	1
Cephalosporines 3 ^e generatie					
Cefotaxime ⁴	S	88	88	-	-
Ceftazidime ⁴	S	14	14	-	-
Ceftizoxime	S	5	5	-	-
Ceftriaxone ⁴	S	55	55	-	-
Cefepime	S	2	2	-	-
«Cephalosporine» ⁵	S	4	4	-	-
Chinolones					
Ciprofloxacin		28	12	6	10
Levofloxacin		59	54	4 ⁷	1
Moxifloxacin		58	58	-	-
Norfloxacin		6	-	-	6
Ofloxacin		35	13	18	4
Gatifloxacin		1	1	-	-
Sparfloxacin		1	1	-	-
Oxolinezuur		1	-	-	1
«Chinolone» ⁶		4	4	-	-

¹ Een groot aantal laboratoria die de gevoeligheid voor penicilline bepaalden met de diffusiemethode, gebruikten hiervoor oxacilline-schijfjes.

² Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor clarithromycine in plaats van voor erythromycine.

³ Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor doxycycline of minocycline in plaats van voor tetracycline.

⁴ Een aantal laboratoria die de gevoeligheid voor één van deze cefalosporines bepaalden met de diffusiemethode, gebruikten hiervoor oxacilline-schijfjes.

⁵ Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte cefalosporine niet.

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

⁷ Eén laboratorium antwoordde «I» voor levofloxacin hoewel het met de ATB methode een resultaat «S» bekam; gezien het resultaat «R» dat met de schijfjes bekomen werd voor norfloxacin, werd het resultaat van levofloxacin naar «I» gewijzigd.

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/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline ¹	10 (18)	10	39.5	29 - 44	18	-	-
Oxacilline/Penicilline ²	21 (22)	1	26	20 - 34	22	-	-
Erythromycine	34 (39)	15	6	6 - 10	-	-	39
Clarithromycine	3 (3)	15	6	6 - 7	-	-	3
Tetracycline	31 (35)	30	19	14 - 22	2	18	15
Doxycycline	2 (2)	30	16	16 - 16	-	-	2
Minocycline	1 (1)	30	15	15 - 15	-	-	1
Cephalosporines							
Cefotaxime ³	10 (11)	30	42.5	35 - 50	11	-	-
Ceftazidime ⁴	1 (1)	30	32	32 - 32	1	-	-
Ceftizoxime	- (1)	-	-	-	1	-	-
Ceftriaxone ⁵	7 (9)	30	36.5	31 - 40	9	-	-
Cefepime	1 (2)	30	41	41 - 41	2	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	6 (7)	5	13.5	6 - 15	2	1	4
Levofloxacin	5 (5)	5	18	16 - 24	4	1	-
Moxifloxacin	8 (10)	5	24.3	21 - 30	10	-	-
Norfloxacin ⁶	- (2)	-	-	-	-	-	2
Ofloxacin	8 (9)	5	15	13 - 18	3	6	-
«Chinolone»	1 (1)	5	19	19 - 19	1	-	-

¹ Een aantal laboratoria hebben de penicillineschijfjes gebruikt voor de bepaling van de gevoeligheid voor penicilline. Drie van deze laboratoria hebben trouwens ook het resultaat van het oxacillineschijfje mee in rekening gebracht voor de beoordeling van de penicillinegevoeligheid.

² Een meerderheid van de laboratoria die de gevoeligheid voor penicilline bepaalden met behulp van de papieren schijfjes deden dit met behulp van een oxacilline-schijfje. Onder de noemer «oxacilline/penicilline» slaan de diameters dan ook op de diameters gemeten rond de oxacilline-schijf; de resultaten slaan op de finale resultaten die voor penicilline geantwoord werden. De diameters bekomen door de drie hoger vermelde laboratoria (die penicilline- en oxacillineschijfjes samen gebruikt hebben) werden hier ook in rekening gebracht.

³ Tevens heeft één laboratorium cefotaxime als gevoelig geantwoord op basis van het resultaat van het oxacillineschijfje.

⁴ Tevens heeft één laboratorium ceftazidime als gevoelig geantwoord op basis van het resultaat van het oxacillineschijfje.

⁵ Tevens hebben twee laboratoria ceftriaxone als gevoelig geantwoord op basis van het resultaat van het oxacillineschijfje.

⁶ De beide laboratoria die de gevoeligheid voor norfloxacin bepaalden met papieren schijfjes, vermelden beiden een verschillende lading; dit maakt een adequate beoordeling van de diameters uiteraard onmogelijk.

Tabel 4.1.3. Bekomen diameters met de schijfjesmethode volgens ROSCO voor staal M/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline ¹	31 (41)	5	40	30 - 50	41	-	-
Oxacilline/Penicilline ²	32 (36)	1	28	16 - 34	36	-	-
Erythromycine ³	65 (77)	78	9	9 - 10	-	-	77
Tetracycline ⁴	33 (44)	80	28	17 - 31	27	11	6
Doxycycline	19 (23)	80	28	25 - 36	22	-	1
Minocycline	1 (1)	80	28	28 - 28	1	-	-
Cefalosporines							
Cefotaxime ⁵	19 (24)	30	42	30 - 48	24	-	-
Ceftazidime	10 (12)	30	35.5	28 - 40	12	-	-
Ceftizoxime	4 (4)	30	42.5	34 - 48	4	-	-
Ceftriaxone ⁶	10 (10)	30	39.5	35 - 48	10	-	-
«Cefalosporine»	1 (1)	30	48	48 - 48	1	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	11 (16)	10	20	17 - 32	10	3	3
Levofloxacin	16 (17)	5	20.5	18 - 26	16	-	1
Moxifloxacin	13 (18)	5	24	16 - 28	18	-	-
Norfloxacin	4 (4)	10	9.5	9 - 10	-	-	4
Ofloxacin	10 (17)	10	20	14 - 21	7	8	2
Oxolinezuur	1 (1)	10	10	10 - 10	-	-	1
«Chinolone»	2 (2)	5	22	22 - 22	2	-	-

- ¹ Een aantal laboratoria hebben de penicillineschijfjes gebruikt voor de bepaling van de gevoeligheid voor penicilline. Tien van deze laboratoria hebben trouwens ook het resultaat van het oxacillineschijfje mee in rekening gebracht voor de beoordeling van de penicillinegevoeligheid.
- ² Een meerderheid van de laboratoria die de gevoeligheid voor penicilline bepaalden met behulp van de Rosco schijfjes deden dit met behulp van een oxacilline-schijfje. Onder de noemer «oxacilline/penicilline» slaan de diameters dan ook op de diameters gemeten rond de oxacilline-schijf; de resultaten slaan op de finale resultaten die voor penicilline geantwoord werden. De diameters bekomen door de tien hoger vermelde laboratoria (die penicilline- en oxacillineschijfjes samen gebruikt hebben) werden hier ook in rekening gebracht. Tevens hebben 2 laboratoria een diameter >20 geantwoord.
- ³ Tevens heeft één laboratorium een diameter <9 geantwoord.
- ⁴ Tevens heeft één laboratorium een diameter >30 geantwoord.
- ⁵ Tevens hebben twee laboratoria cefotaxime als gevoelig geantwoord op basis van het resultaat van het oxacillineschijfje. Ook heeft één laboratorium een diameter >30 geantwoord.
- ⁶ Tevens heeft één laboratorium ceftriaxone als gevoelig geantwoord op basis van het resultaat van het oxacillineschijfje.

De firma International Medical (verdelers van de Rosco schijfjes) werd gecontacteerd over het grote aantal «gevoelige» antwoorden voor tetracycline. Een samenvatting van de resultaten van hun onderzoek vindt u hieronder:

MIC value

MICs were performed using the agar dilution method, following the CLSI recommendations. *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 and *S. pneumoniae* ATCC 49619 were used as control. *S. pneumoniae* strain M/6697 showed no change in growth (same as control without antibiotic) up to MIC 1 µg/ml. At MIC 2 µg/ml there was a strong reduction of growth, and at MIC 4 µg/ml the growth reduction was even stronger. At MIC 8 µg/ml there was no growth.

Tetracycline being a bacteriostatic antimicrobial, the MIC value must be placed around 4 µg/ml (intermediate result according to CLSI breakpoints).

Presence of CO₂

Testing of the strain on a CO₂ atmosphere showed an increase of the zone size of 4 to 5 mm compared to testing on a normal atmosphere.

This is due to the fact that CO₂ reduces the pH value of the medium, resulting in an increase of activity of tetracycline.

Incubation time

CLSI recommends an incubation time of 20-24 hours with pneumococci. This is rather critical with the present strain. Shorter incubation times result in larger inhibition zones, because growth of smaller colonies is not detected at shorter incubation times. It may result in false susceptibility.

Reading of the inhibition zone

Our studies showed that the zone of inhibition is difficult to read, because there is a gradient of growth going from no growth to colonies of normal size (compared to the reduction of growth from 2 µg/ml up to 8 µg/ml). The CLSI recommends reading of the clear zone. Reading of other zones may result in false susceptible results.

Our results, using the recommendations of the CLSI i.e. incubation 20-24 hours, CO₂ atmosphere, and reading of the clear zone, showed a mean inhibition zone of 21 mm (range 20-22 mm) with Tetracyclines (80 µg) Neo-Sensitabs, classifying the strain as intermediate/resistant.

De resultaten die met de E-test bekomen werden, zijn samengevat in onderstaande tabel.

Tabel 4.1.4. Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor stam M/6697 (*S. pneumoniae*).

	MIC (mg/l)											Resultaten				
	Aantal resultaten	< 0,016	0,016	0,032	0,064	0,125	0,256	0,512	1	2	4	8	>	S	I	R
Penicilline	48	2	5	28	13									47	1	-
Erythromycine ¹	4	1											2	-	-	4
Tetracycline	3	1								1	1			-	1	2
Cephalosporines																
Cefotaxime	17		4	10	3									17	-	-
Ceftriaxone	19		3	10	3									19	-	-
«Cephalosporine»	1				1									1	-	-
Chinolones																
Ciprofloxacine	1								1					-	1	-
Levofloxacine	3							2	1					2	1	-
Moxifloxacine	2					1	1							2	-	-

* MIC-waarde niet vermeld.

¹ Eén laboratorium antwoordde een MIC-waarde ≥ 1 mg/l.

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/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Vitek 2			Aantal labos dat deze verdunning vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Vitek 2 compact		
	Finaal resultaat				Finaal resultaat		
	S	I	R		S	I	R
		Meest vermelde verdunning			Meest vermelde verdunning		Aantal labos dat deze verdunning vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
Penicilline	39	-	≤ 0.06	37 (39)	8	-	7 (8)
Erythromycine	1	9	≥ 1	28 (40)	-	2	4 (8)
Tetracycline	-	-	8	29 (43)	-	-	4 (8)
Cefalosporines							
Cefotaxime	21	-	≤ 0.06	19 (21)	3	-	3 (3)
Ceftriaxone	18	-	≤ 0.06	18 (18)	3	-	3 (3)
«Cefalosporine»	2	-	≤ 0.06	2 (2)	-	-	-
Chinolones							
Levofloxacin	16	-	2	8 (16)	3	-	2 (3)
Moxifloxacin	23	-	≤ 0.25	20 (23)	5	-	5 (5)
Ofloxacin	3	4	4	5 (8)	-	-	-
Gatifloxacin	1	-	≤ 0.5	1 (1)	-	-	-
Sparfloxacin	1	-	≤ 0.12	1 (1)	-	-	-
«Chinolone»	1	-	≤ 0.25	1 (1)	-	-	-

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:

- voor erythromycine vonden 8 laboratoria een verdunning van 0.5 mg/l en 1 laboratorium een verdunning van ≤ 0.06 mg/l met Vitek 2 en 3 laboratoria een verdunning van 0.5 mg/l met Vitek 2 compact
- voor tetracycline vonden 7 deelnemers een verdunning ≥ 16 mg/l met Vitek 2
- voor levofloxacin vond 1 deelnemer een verdunning ≤ 0.05 mg/l en 1 een verdunning van ≤ 0.25 mg/l met Vitek 2

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 M/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Penicilline	15	-	-
Erythromycine	-	-	16
Tetracycline	1	-	14
Cefalosporines			
Cefotaxime	13	-	-
Ceftriaxone	1	-	-
Chinolones			
Ciprofloxacin	-	1	-
Levofloxacin ¹	12	1 ¹	-

¹ Eén laboratorium antwoordde «I» voor levofloxacin hoewel het met de ATB methode een resultaat «S» bekam; gezien het resultaat «R» dat met de schijfjes bekomen werd voor norfloxacin, werd het resultaat van levofloxacin naar «I» gewijzigd.

De resultaten bekomen met de toestellen Phoenix, Osiris en Sirscan worden weergegeven in tabellen 4.1.7. tot 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 4.1.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Penicilline	4	-	-
Erythromycine	-	-	4
Tetracycline	-	-	4
Cefalosporines			
Cefotaxime	3	-	-
Ceftriaxone	1	-	-
Chinolones			
Levofloxacin	1	-	-
Moxifloxacin	3	-	-

Tabel 4.1.8. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Penicilline	2	-	-
Erythromycine	-	-	5
Tetracycline	2	1	1
Cefalosporines			
Cefotaxime	1	-	-
Ceftriaxone	1	-	-
Chinolones			
Ciprofloxacin	-	-	2
Levofloxacin	1	1	-
Norfloxacin	-	-	1
Ofloxacin	-	-	1

Tabel 4.1.9. Resultaten bekomen met de Sirscan voor staal M/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Penicilline	2	-	-
Erythromycine	-	-	4
Tetracycline	1	-	-
Doxycycline	2	-	-
Minocycline	-	1	-
Cefalosporines			
Cefotaxime	2	-	-
Ceftriaxone	1	-	-
Chinolones			
Ciprofloxacin	-	-	1
Levofloxacin	2	-	-
Moxifloxacin	1	-	-

Tot slot dient vermeld dat:

- vier 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:

- erythromycine:
 - o I->R
 - Vitek 2 : 2 labo's
 - Vitek 2 compact : 1 labo
- tetracycline:
 - o S->I
 - Rosco : 1 labo
 - o I->R
 - Vitek 2 : 6 labo's
 - Vitek 2 compact : 1 labo
 - Rosco : 1 labo
- ciprofloxacin:
 - o I->R
 - Rosco : 1 labo
- levofloxacin:
 - o S->I
 - E test : 1 labo
 - ATB : 1 labo (dit is het laboratorium dat S in I wijzigde voor levofloxacin, gebaseerd op de resultaten van de schijfjesmethode voor norfloxacin)
 - o S->R
 - Rosco : 1 labo
- ofloxacin:
 - o I->R
 - Osiris : 1 labo

4.2. Cultuur M/6785 (*S. pneumoniae*)

Aantal deelnemers = 187

Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid met meer dan 1 methode

Niet alle deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor alle antibiotica. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor meer dan één chinolone en/of cefalosporine. Eén laboratorium antwoordde geen resultaten voor de 3^e generatie cefalosporines: het vermeldde dat de diffusietesten hiervoor niet aangeraden worden (en het labo beschikt niet over testen voor bepaling van de MIC voor deze antibiotica). 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.

Vijf laboratoria hebben geen antibiogram bepaald voor staal M/6785: dit betreft de 3 laboratoria die «Geen pathogenen» geantwoord hebben, het laboratorium dat dergelijke stalen doorstuurt, maar ook één laboratorium dat «*S. pneumoniae*» antwoordde.

Tabel 4.2.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/6785 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Resultaat Verwachte	Totaal aantal labo's	S	I	R
Penicilline ¹	S	184	184	-	-
Amoxicilline ²	S	135	135	-	-
Ampicilline ³	S	12	12	-	-
Erythromycine	S	180	177	-	3
Clarithromycine ⁴	S	4	4	-	-
Cefalosporines 3 ^e generatie					
Cefotaxime ⁵	S	37	37	-	-
Ceftazidime ⁵	S	13	13	-	-
Ceftizoxime	S	5	5	-	-
Ceftriaxone ⁵	S	54	54	-	-
Cefepime	S	1	1	-	-
Cefsulodine	S	1	-	-	1
«Cefalosporine» ⁶	S	4	4	-	-
Chinolones					
Ciprofloxacin	R	29	1	-	28
Levofloxacin	R	56	3	-	53
Moxifloxacin	R	59	2	2	55
Norfloxacin	R	6	-	-	6
Ofloxacin	R	33	-	-	33
Gatifloxacin	R	1	-	-	1
Sparfloxacin	R	1	-	-	1
Oxolinezuur	R	1	-	-	1
«Quinolone» ⁷	R	4	-	-	4

¹ Een groot aantal laboratoria die de gevoeligheid voor penicilline bepaalden met de diffusiemethode, gebruikten hiervoor oxacilline-schijfjes.

² Een aantal laboratoria die de gevoeligheid voor amoxicilline bepaalden met de diffusiemethode, gebruikten hiervoor oxacilline-schijfjes.

³ Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor ampicilline in plaats van voor amoxicilline.

⁴ Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor clarithromycine in plaats van voor erythromycine.

⁵ Een aantal laboratoria die de gevoeligheid voor één van deze cefalosporines bepaalden met de diffusiemethode, gebruikten hiervoor oxacilline-schijfjes.

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

⁷ Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

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. 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 4.2.2. Bekomen diameters met de schijfjesmethode volgens CLSI voor staal M/6785 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline ¹	8 (15)	10	34.2	25 - 42	15	-	-
Oxacilline/Penicilline ²	19 (22)	1	25	20 - 35	22	-	-
Amoxicilline ³	4 (9)	25	31	29 - 43	9	-	-
Ampicilline	4 (5)	10	35.2	22 - 45	5	-	-
Erythromycine	30 (35)	15	27	22 - 34	35	-	-
Clarithromycine	3 (3)	15	28	26 - 29	3	-	-
Cefalosporines							
Cefotaxime ⁴	9 (11)	30	38	29 - 50	11	-	-
Ceftazidime ⁵	1 (1)	30	30	30 - 30	1	-	-
Ceftizoxime	- (1)	-	-	-	1	-	-
Ceftriaxone ⁶	6 (6)	30	34.5	30 - 40	6	-	-
Cefepime	- (1)	-	-	-	1	-	-
Cefsulodine	1 (1)	30	14	14 - 14	-	-	1
Chinolones							
Ciprofloxacin ⁷	5 (7)	5	6	6 - 31	1	-	6
Levofloxacin	4 (5)	5	6	6 - 6	-	-	5
Moxifloxacin	9 (11)	5	8	6 - 10.4	1	-	10
Norfloxacin	1 (2)	5	6	6 - 6	-	-	2
Ofloxacin	8 (10)	5	6	6 - 7	-	-	10
«Chinolone»	1 (1)	5	7	7 - 7	-	-	1

- ¹ Een aantal laboratoria hebben de penicillineschijfjes gebruikt voor de bepaling van de gevoeligheid voor penicilline. Drie van deze laboratoria hebben trouwens ook het resultaat van het oxacillineschijfje mee in rekening gebracht voor de beoordeling van de penicillinegevoeligheid.
- ² Een meerderheid van de laboratoria die de gevoeligheid voor penicilline bepaalden met behulp van de papieren schijfjes deden dit met behulp van een oxacilline-schijfje. Onder de noemer «oxacilline/penicilline» slaan de diameters dan ook op de diameters gemeten rond de oxacilline-schijf; de resultaten slaan op de finale resultaten die voor penicilline geantwoord werden. De diameters bekomen door de drie hoger vermelde laboratoria (die penicilline- en oxacillineschijfjes samen gebruikt hebben) werden hier ook in rekening gebracht.
- ³ Tevens hebben 16 laboratoria amoxicilline als gevoelig geantwoord op basis van het resultaat van het oxacillineschijfje.
- ⁴ Tevens heeft één laboratorium cefotaxime als gevoelig geantwoord op basis van het resultaat van het oxacillineschijfje.
- ⁵ Tevens hebben twee laboratoria ceftazidime als gevoelig geantwoord op basis van het resultaat van het oxacillineschijfje.
- ⁶ Tevens hebben 4 laboratoria ceftriaxone als gevoelig geantwoord op basis van het resultaat van het oxacillineschijfje.
- ⁷ Tevens heeft één laboratorium een diameter <6 geantwoord.

Tabel 4.2.3. Bekomen diameters met de schijfjesmethode volgens ROSCO voor staal M/6785 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline ¹	28 (39)	5	35.5	29 - 50	39	-	-
Oxacilline/Penicilline ²	33 (36)	1	26	20 - 41	36	-	-
Amoxicilline ³	27 (37)	30	39	30 - 50	37	-	-
Ampicilline	5 (5)	33	39	28 - 47	5	-	-
Erythromycine ⁴	59 (72)	78	32	28 - 40	72	-	-
Clarithromycine	1 (1)	30	30	30 - 30	1	-	-
Cefalosporines							
Cefotaxime ⁵	18 (24)	30	38.5	28 - 50	24	-	-
Ceftazidime ⁶	8 (10)	30	32.5	30 - 36	10	-	-
Ceftizoxime	4 (4)	30	36	32 - 45	4	-	-
Ceftriaxone	10 (11)	30	36	30 - 42	11	-	-
«Cefalosporine»	1 (1)	30	39	39 - 39	1	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	12 (17)	10	10	9 - 14	-	-	17
Levofloxacin	15 (16)	5	9	9 - 20	2	-	14
Moxifloxacin	14 (20)	5	9	6 - 11	-	-	20
Norfloxacin	4 (4)	10	9.5	9 - 10	-	-	4
Ofloxacin ⁷	13 (16)	10	10	9 - 10	-	-	16
Oxolinezuur	1 (1)	10	10	10 - 10	-	-	1
«Chinolone»	2 (2)	5	9.5	9 - 10	-	-	2

- ¹ Een aantal laboratoria hebben de penicillineschijfjes gebruikt voor de bepaling van de gevoeligheid voor penicilline. Negen van deze laboratoria hebben trouwens ook het resultaat van het oxacillineschijfje mee in rekening gebracht voor de beoordeling van de penicillinegevoeligheid.
- ² Een meerderheid van de laboratoria die de gevoeligheid voor penicilline bepaalden met behulp van de Rosco schijfjes deden dit met behulp van een oxacilline-schijfje. Onder de noemer «oxacilline/penicilline» slaan de diameters dan ook op de diameters gemeten rond de oxacilline-schijf; de resultaten slaan op de finale resultaten die voor penicilline geantwoord werden. De diameters bekomen door de 9 hoger vermelde laboratoria (die penicilline- en oxacillineschijfjes samen gebruikt hebben) werden hier ook in rekening gebracht. Tevens hebben 2 laboratoria een diameter >20 geantwoord.
- ³ Tevens hebben twee laboratoria een diameter >30 geantwoord.
- ⁴ Tevens hebben twee laboratoria een diameter >30 geantwoord.
- ⁵ Tevens heeft één laboratorium een diameter >30 geantwoord.
- ⁶ Tevens heeft één laboratorium een diameter >30 geantwoord.
- ⁷ Tevens heeft één laboratorium een diameter <9 geantwoord.

De resultaten die met de E-test bekomen werden, zijn samengevat in onderstaande tabel.

Tabel 4.2.4. Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor staal M/6785 (*S. pneumoniae*).

	Aantal resultaten	*	MIC (mg/l)											Resultaat		
			> 0,016	0,016	0,032	0,064	0,128	0,256	1	4	8	16	S	I	R	
			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				>
			0,032	0,064	0,128	0,256	1	4	8	16	32	32				
Penicilline ¹	48	3	8	26	10								48	-	-	
Amoxicilline	9	1	3	4			1						9	-	-	
Erythromycine	4	1			1	1	1						4	-	-	
Cefalosporines																
Cefotaxime	17		4	11	1	1							17	-	-	
Ceftriaxone	17	3	1	9	4								17	-	-	
«Cefalosporine»	1			1									1	-	-	
Chinolones																
Ciprofloxacin	1											1	-	-	1	
Levofloxacin	2											2	-	-	2	
Moxifloxacin	2											2	-	-	2	
Ofloxacin	1											1	-	-	1	

* MIC-waarde niet vermeld.

¹ Eén laboratorium antwoordde een MIC < 0.06 mg/l.

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

Tabel 4.2.5. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/6785 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Vitek 2						Vitek 2 compact					
	Finaal resultaat			Meest vermelde verdunning	Aantal labos dat deze verdunning vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Finaal resultaat			Meest vermelde verdunning	Aantal labos dat deze verdunning vermeldde (Totaal aantal gebruikers)		
	S	I	R			S	I	R				
Penicilline	34	-	-	≤ 0,06	33 (34)	8	-	-	≤ 0,06	7 (8)		
Amoxicilline	36	-	-	≤ 0,06	33 (36)	7	-	-	≤ 0,06	6 (7)		
Erythromycine	37	-	2	≤ 0,06	35 (37)	8	-	-	≤ 0,06	6 (8)		
Cefalosporines												
Cefotaxime	20	-	-	≤ 0,06	18 (20)	3	-	-	≤ 0,06	3 (3)		
Ceftriaxone	16	-	-	≤ 0,06	16 (16)	3	-	-	≤ 0,06	3 (3)		
«Cefalosporine»	2	-	-	≤ 0,06	2 (2)	-	-	-	-	-		
Chinolones												
Levofloxacin	-	-	12	≥ 8	12 (12)	-	-	3	≥ 8	2 (3)		
Moxifloxacin	1	2	19	≥ 4	16 (22)	-	-	5	≥ 4	5 (5)		
Ofloxacin	-	-	8	≥ 8	7 (7)	-	-	-	-	-		
Gatifloxacin	-	-	1	4	1 (1)	-	-	-	-	-		
Sparfloxacin	-	-	1	≥ 4	1 (1)	-	-	-	-	-		
«Chinolone»	-	-	1	≥ 8	1 (1)	-	-	-	-	-		

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:

- voor erythromycine vond 1 laboratorium een verdunning van ≥ 1 mg/l en 1 laboratorium een verdunning van ≥ 8 mg/l met Vitek 2 en 1 laboratorium een verdunning van 0.25 mg/l met Vitek 2 compact
- voor cefotaxime vond 1 laboratorium een verdunning van 0.25 mg/l met Vitek 2
- voor moxifloxacin vonden 2 deelnemers een verdunning van 2 mg/l, 1 deelnemer een verdunning van 4 en 1 een verdunning van ≤ 0.25 mg/l met Vitek 2

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 M/6785 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Penicilline	17	-	-
Amoxicilline	15	-	-
Ampicilline	1	-	-
Erythromycine	17	-	-
Cefalosporines			
Cefotaxime	15	-	-
Ceftriaxone	1	-	-
Chinolones			
Ciprofloxacin	-	-	1
Levofloxacin	-	-	15

De resultaten bekomen met de toestellen Phoenix, Osiris en Sirscan worden weergegeven in tabellen 4.2.7. tot 4.2.9. 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 4.2.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/6785 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Penicilline	4	-	-
Amoxicilline	4	-	-
Erythromycine	4	-	-
Cefalosporines			
Cefotaxime	3	-	-
Ceftriaxone	1	-	-
Chinolones			
Levofloxacin	-	-	1
Moxifloxacin	-	-	3

Tabel 4.2.8. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/6785 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Penicilline	2	-	-
Amoxicilline	1	-	-
Ampicilline	2	-	-
Erythromycine	4	-	1
Cefalosporines			
Cefotaxime	1	-	-
Ceftriaxone	1	-	-
Chinolones			
Ciprofloxacin	-	-	3
Levofloxacin	-	-	2
Norfloxacin	-	-	1
Ofloxacin	-	-	1

Tabel 4.2.9. Resultaten bekomen met de Sirscan voor staal M/6785 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Penicilline	2	-	-
Amoxicilline	2	-	-
Erythromycine	4	-	-
Cefalosporines			
Cefotaxime	2	-	-
Ceftriaxone	1	-	-
Chinolones			
Ciprofloxacin	-	-	1
Levofloxacin	-	-	2
Moxifloxacin	-	-	1

Tot slot dient vermeld dat :

- zes laboratoria niet vermeldden welke techniek zij gebruikt hebben ter bepaling van de gevoeligheid voor één of meer antibiotica

In alle gevallen behielden de laboratoria het ruw resultaat voor het antwoorden van het finale resultaat.

V. PARASITOLOGIE

5.1. De monsters

Ter gelegenheid van deze enquête werden 2 geformaliseerde fecestalen verzonden. De stalen waren vergezeld van volgende klinische informatie:

Staal P/5499:

«Een man van 54 jaar heeft enkele weken na zijn terugkeer van een reis naar Zuid-Amerika vage abdominale klachten.»

Staal P/6393:

«Een vrouw van 21 jaar heeft enkele weken na haar terugkeer van een reis naar Zuid-Amerika vage abdominale klachten.»

Staal P/5499 bevatte eieren van *Ascaris lumbricoides*.

Staal P/6393 bevatte eieren van *Taenia species*, cysten van *Blastocystis hominis*, cysten van *Entamoeba hartmanni*.

185 laboratoria hebben voor hun antwoorden ingeleverd.

Het aantal toolkit gebruikers bedroeg 38%. 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,...

5.2. Resultaten

5.2.1 Staal P/5499

De 185 laboratoria leverden 199 antwoorden in. 23 laboratoria antwoordden «Afwezigheid van parasieten», 149 laboratoria antwoordden één parasiet, 12 antwoordden 2 parasieten en 1 laboratorium antwoordde 3 parasieten. De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.2.1.1. Resultaten voor staal P/5499

Resultaat	Aantal
<i>Ascaris lumbricoides</i>	152
Afwezigheid van parasieten	23
<i>Blastocystis hominis</i>	6
<i>Endolimax nana</i>	3
<i>Chilomastix mesnili</i>	2
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	2
<i>Fasciola hepatica</i>	2
<i>Capillaria hepatica</i>	1
<i>Cryptosporidium parvum</i>	1
<i>Entamoeba coli</i>	1
<i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Enteromonas hominis</i>	1
<i>Iodamoeba butschlii</i>	1
<i>Paragonimus westermani</i>	1
<i>Taenia saginata</i>	1
<i>Taenia species</i>	1
Totaal	199

De beide laboratoria die *Taenia saginata* of *Taenia species* geantwoord hebben, hebben wellicht beide stalen verwisseld.

Wij hebben de stalen van de laboratoria die "Afwezigheid van parasieten" geantwoord hebben en waarvan voldoende staal beschikbaar was om een analyse uit te voeren, herbekeken. Hieruit is gebleken dat deze stalen *Ascaris* eieren bevatten, doch dat deze vaak atypisch waren. In het commentaar worden een aantal foto's gepubliceerd ter verduidelijking.

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Ascaris lumbricoides* worden in volgende tabel weergegeven.

Tabel 5.2.1.2. Evolutiestadia voor *Ascaris lumbricoides* voor staal P/5499

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Ei	145
Atypisch ei	6
Embryofoor	1
Totaal	152

11 laboratoria hebben vermeld dat het (een) onbevucht(e) ei(eren) betrof; 1 laboratorium vermeldde dat het een bevrucht ei betrof.

5.2.2 Staal P/6393

De 185 laboratoria leverden 369 antwoorden in. 53 laboratoria antwoordden één parasiet, 82 antwoordden 2 parasieten, 48 antwoordden 3 parasieten en 2 antwoordden 4 parasieten.

De parasieten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.2.2.1. Antwoorden voor staal P/6393

Parasiet	Aantal
<i>Taenia species</i>	153
<i>Taenia saginata</i>	22
<i>Blastocystis hominis</i>	51
<i>Entamoeba hartmanni</i>	75
<i>Entamoeba histolytica</i>	16
<i>Entamoeba coli</i>	4
<i>Entamoeba species</i>	3
<i>Entamoeba polecki</i>	1
<i>Endolimax nana</i>	21
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	10
<i>Ascaris lumbricoides</i>	4
<i>Cryptosporidium parvum</i>	4
<i>Enteromonas hominis</i>	2
<i>Giardia lamblia, G. intestinalis</i>	1
<i>Trichinella spiralis</i>	1
Cyste van niet te identificeren parasiet	1
Totaal	369

Twee van de laboratoria die *Ascaris lumbricoides* geantwoord hebben, hebben wellicht beide stalen verwisseld.

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

Tabel 5.2.2.2. Combinatie van 2 parasieten geantwoord voor staal P/6393

Combinatie van parasieten	Aantal
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	37
<i>Taenia species</i> + <i>Endolimax nana</i>	12
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba histolytica</i>	8
<i>Taenia species</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	5
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba coli</i>	2
<i>Taenia species</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i>	2
<i>Taenia species</i> + <i>Cryptosporidium parvum</i>	1
<i>Taenia species</i> + <i>Enteromonas hominis</i>	1
<i>Taenia saginata</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	4
<i>Taenia saginata</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	2
<i>Taenia saginata</i> + <i>Endolimax nana</i>	2
<i>Taenia saginata</i> + <i>Entamoeba histolytica</i>	1
<i>Taenia saginata</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	1
<i>Blastocystis hominis</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Blastocystis hominis</i> + <i>Entamoeba histolytica</i>	1
<i>Blastocystis hominis</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	1
<i>Endolimax nana</i> + <i>Trichinella spiralis</i>	1
Totaal	82

Tabel 5.2.2.3. Combinatie van 3 parasieten geantwoord voor staal P/6393

Combinatie van parasieten	Aantal
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	21
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Cryptosporidium parvum</i>	3
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Endolimax nana</i>	1
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Entamoeba histolytica</i>	1
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>G. lamblia</i>	1
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	3
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	1
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba species</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	3
<i>Taenia species</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Endolimax nana</i>	3
<i>Taenia species</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i>	2
<i>Taenia species</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + Niet geïdentificeerde parasiet	1
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	2
<i>Taenia saginata</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	2
<i>Taenia saginata</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
<i>Taenia saginata</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Taenia saginata</i> + <i>Entamoeba polecki</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
Totaal	48

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Taenia species*, *B. hominis* en *Entamoeba hartmanni* worden in volgende tabellen weergegeven. Alle 22 laboratoria die het antwoord *T. saginata* gaven, hebben als evolutiestadium «ei» geantwoord. Alle laboratoria die de antwoorden *E. histolytica* (16) of *Entamoeba species* (3) gaven, hebben als evolutiestadium «cyste» geantwoord.

Tabel 5.2.2.4. Evolutiestadia voor *Taenia species* voor staal P/6393

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Ei	148
Embryofoor	4
Cyste	1
Totaal	153

Tabel 5.2.2.5. Evolutiestadia voor *Blastocystis hominis* voor staal P/6393

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Cyste	40
Niet gepreciseerd	4
Oöcyste	3
Vegetatieve vorm	2
Ei	1
Pseudocyste	1
Totaal	51

Tabel 5.2.2.6. Evolutiestadia voor *entamoeba hartmanni* voor staal P/6393

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Cyste	72
Oöcyste	1
Trofozoïet	1
Ei	1
Totaal	75

5.3. Commentaar op de resultaten van de enquête 2006/2 parasitologie

Het staal P/5499 bevatte onbevuchte eieren van *Ascaris lumbricoides*. Deze onbevuchte eieren zijn langer en smaller (85-95 op 43-47 μm) (foto 1 en 2) dan de typische bevruchte eieren (55-75 op 35-50 μm). Ze bevatten, in plaats van een zygote of een larve, onregelmatige korrels (3). Deze onbevuchte eieren zijn niet besmettelijk wanneer ze zouden worden ingenomen (2). Al de eieren van *A. lumbricoides* hebben een typisch uitzicht, ovaal, bruingekleurd (door de aanwezigheid van galzouten), omgeven door een knobbelige schaal, en bevatten als ze bevrucht zijn een zygote. Wanneer men een ei van boven bekijkt, door gepast te micrometren, dan kan men de «schubben» duidelijk zien. Wanneer men enkel onbevuchte eieren aantreft mag men er van uitgaan dat het een parasitisme betreft met overwegend of uitsluitend vrouwelijke wormen. In de meeste gevallen zal de parasitaire last dan ook redelijk beperkt zijn. Er is geen enkele reden om aan te nemen dat bij gelijke wormlast een infectie waar men enkel onbevuchte eieren terugvindt minder ernstig zou zijn (vrouwelijke *Ascaris*-wormen zijn bovendien groter dan mannelijke). Men neemt aan dat per ei gevonden per standaardpreparaat (ongeveer 2 mg faeces; komt ongeveer overeen met de inhoud van een standaardpreparaat met een dekglasje van 22 x 22 mm) één volwassen *Ascaris* worm aanwezig is. Het kan gebeuren dat men geen eieren vindt wanneer er enkel mannelijke wormen zijn (3). Bij koorts en in andere omstandigheden kunnen wormen het lichaam verlaten (via de mond, de neus of de anus). Dit zou meer voorkomen met mannelijke wormen zodat het niet ongewoon is bij kinderen na een koortsepisode enkel vrouwelijke wormen aan te treffen (1).

De prepatentie voor *Ascaris* (tengevolge van de migratie door de weefsels en tot op het ogenblik dat er eieren terug te vinden zijn in de faeces) bedraagt 2 tot 3 maanden (2, 3). De levensduur van een volwassen *Ascaris*-worm in de darm wordt geraamd op 1 à 2 jaar (1, 2, 3).

Voor een volledige reeks illustraties verwijzen we naar het rapport 2004/1 (beschikbaar op de website via

http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/nl/rapports_annee.htm).



Foto 1 en 2: onbevuchte eieren van *Ascaris lumbricoides* in staal P/5499.

Het staal P/6393 bevatte eieren van *Taenia* sp. Ze waren niet meer zo mooi als in een vers staal maar waren ongetwijfeld duidelijk herkenbaar. Door gepast micrometeren kon men haakjes van de hexacanth larve zien (foto 3 en 4). Deze eitjes zijn rond met een diameter van ongeveer 31-43 μm , ze bevatten een larve met zes haakjes (hexacanth larve of oncosfeer) en een dik bruin radiaal gestreept kapsel (3). Voor een volledige beschrijving van *Taenia* spp. verwijzen we naar het rapport 2004/2 (beschikbaar op de website via http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/nl/rapports_annee.htm). Men vindt zelden eitjes van *Taenia saginata* in de stoelgang maar wel regelmatig proglottiden, die één voor één de darm verlaten ook tussen de ontlastingen in (1, 3). Ze blijven nog een korte tijd actief na emissie en kunnen ook op het linnen worden aangetroffen (3). Eén proglottide bevat ongeveer 100000 eitjes (3).

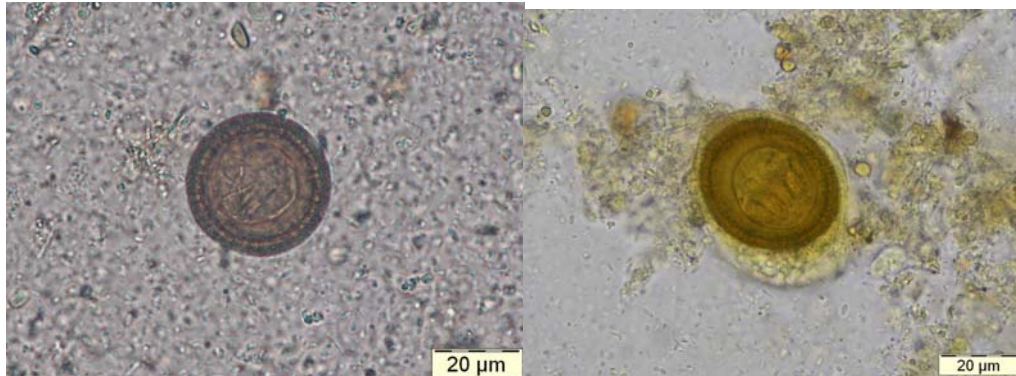


Foto 3 en 4: eieren van *Taenia* sp. in staal P/6393.

In het staal P/6393 kon men eveneens cysten terugvinden van *Blastocystis hominis* (foto 5) en van *Entamoeba hartmanni* (foto 6). De cysten van *E. hartmanni* konden worden geïdentificeerd op basis van hun grootte (tot 10 μm groot). Weliswaar was de kernstructuur meestal niet duidelijk zichtbaar. PCR voor *Entamoeba histolytica* en PCR voor *Entamoeba dispar* uitgevoerd in het Instituut voor Tropische Geneeskunde te Antwerpen waren negatief. Voor de gedetailleerde beschrijving van deze protozoa verwijzen we naar de rapporten 2005/3 en 2006/1 (beschikbaar via het web http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/nl/rapports_annee.htm).

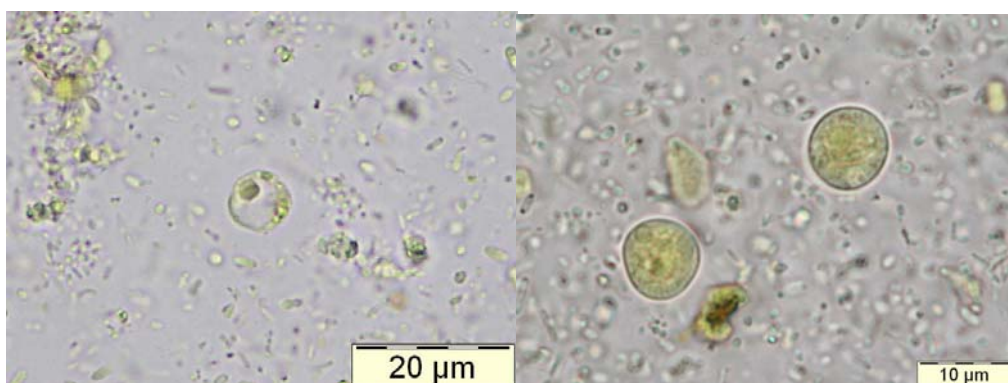


Foto 5 en 6: *Blastocystis hominis* en *Entamoeba hartmanni* in staal P/6393.

M. Lontie, MCH, Leuven, M. Van Esbroeck, ITG en K. Vernelen, WIV, Brussel

REFERENTIES

1. Beaver P., Jung R., Cupp E. 1984. *Clinical Parasitology*. Lea & Febiger, Philadelphia.
2. <http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/Ascariasis.htm>
3. Vandepitte J. 1988. *Helminthologie Médicale*, Acco SV, Leuven

VI. SEROLOGIE

6.1 Beschrijving van de monsters

Er werden 2 stalen rondgestuurd: één gelyofiliseerd staal S/4661 en één «klaar-voorgebruik» staal S/4670.

Op beide stalen dienden de testen voor Hepatitis B en C uitgevoerd te worden.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:
« Patiënten met geelzucht»

De verwachte resultaten en interpretaties waren

S/4661:

HBsAg: positief

HBsAs: negatief

HBcAs: positief

HBeAg: negatief

HBeAs: positief

Interpretatie:

Infectie met het HBV

HCV: negatief

S/4670:

HBsAg: negatief

HBsAs: negatief

HBcAs: negatief

HBeAg: negatief

HBeAs: negatief

Interpretatie:

Negatieve serologie

HCV: positief

6.2 HBV

6.2.1. De deelnemers

In het totaal stuurden 188 laboratoria hun antwoordformulier terug.

Staal S/4661	S/4670
807 testen uitgevoerd	762 testen uitgevoerd
- HBs Ag: 190 testen	- HBs Ag: 190 testen
- anti-HBs Ac: 186 testen	- anti-HBs Ac: 187 testen
- anti-HBc Ac: 181 testen	- anti-HBc Ac: 181 testen
- HBe Ag: 115 testen	- HBe Ag: 97 testen
- anti-HBe Ac: 111 testen	- anti-HBe Ac: 93 testen
- HBs Ag confirmatie: 15 testen	- HBs Ag confirmatie: 8 testen
- IgM anti-HBc: 9 testen	- IgM anti-HBc: 6 testen

De combinaties per laboratorium worden in volgende tabellen weergegeven.

Tabel 6.2.1. Combinatie van 2 parameters van de hepatitis B serologie.

Uitgevoerde parameters	Aantal labo's	
	S/4661	S/4670
Ag HBs + HBs As	3	3
Ag HBs + HBc As	1	1
Totaal	4	4

Tabel 6.2.2. Combinatie van 3 parameters van de hepatitis B serologie.

Uitgevoerde parameters	Aantal labo's	
	S/4661	S/4670
Ag HBs + HBs As + HBc As	55	74
Ag HBs + HBs As + IgM HBc	1	2
Ag HBs + HBs As + Ag HBe	1	1
Totaal	57	76

Tabel 6.2.3. Combinatie van 4 parameters van de hepatitis B serologie.

Uitgevoerde parameters	Aantal labo's	
	S/4661	S/4670
Ag HBs + HBs As + HBc As + Ag HBe	7	6
Ag HBs + HBs As + HBc As + HBe As	4	3
Ag HBs + HBs As + HBc As + Ag HBs confirmatie	5	5
Ag HBs + HBs As + HBc As + HBc IgM	1	1
Ag HBs + HBs As + HBc IgM + Ag HBs confirmatie	1	-
2 x Ag HBs + HBs As + HBc As	2	2
Totaal	20	17

Tabel 6.2.4. Combinatie van 5 parameters van de hepatitis B serologie.

Uitgevoerde parameters	Aantal labo's	
	S/4661	S/4670
Ag HBs + HBs As + HBc As + Ag HBe + HBe As	93	85
Ag HBs + HBs As + HBc IgM + Ag HBe + HBe As	2	2
Ag HBs + HBs As + HBc As + Ag HBe + Ag HBs confirmatie	-	1
Totaal	95	88

Tabel 6.2.5. Combinatie van 6 parameters van de hepatitis B serologie.

Uitgevoerde parameters	Aantal labo's	
	S/4661	S/4670
Ag HBs + HBs As + HBc As + Ag HBe + HBe As + Ag HBs confirmatie	8	2
Ag HBs + HBs As + HBc As + Ag HBe + HBe As + IgM HBc	3	1
Totaal	11	3

Tabel 6.2.6. Combinatie van 7 parameters van de hepatitis B serologie.

Uitgevoerde parameters	Aantal labo's	
	S/4661	S/4670
Ag HBs + HBs As + HBc As + Ag HBe + HBe As + IgM HBc + Ag HBs confirmatie	1	-
Totaal	1	-

Enkele opvallende feiten die uit voorgaande gegevens blijken, zijn:

- alle laboratoria hebben HBs Ag bepaald, 2 hebben dit met 2 methoden gedaan
- 187 laboratoria hebben HBs As bepaald op staal S/4670 en 186 op staal S/4661 (het laboratorium dat enkel op S/4661 geen HBs As bepaalde verklaarde dit door een staalgebrek)
- 44 laboratoria bepaalden Hbc IgM zonder bepaling van totale HBc As

6.2.2. Gebruikte reagentia

Tabellen 6.2.7 tot en met 6.2.13. geven in aantal weer welke reagentia door de deelnemers gebruikt werden voor de verschillende parameters. Niet alle laboratoria bepaalden alle parameters. Sommige laboratoria bepaalden 1 parameter met meerdere reagentia.

Tabel 6.2.7. Reagentia gebruikt voor de bepaling van HBs Ag

Fabrikant	Reagens	S/4661	S/4670
Abbott	AxSYM HBsAg	56	56
	Architect HBsAg	25	24
	Prism HBsAg	2	2
Bayer	Centaur HBsAg	11	11
Beckman (verdelers Analis)	Access HBsAg	27	27
bioMérieux	VIDAS HBs Ag	17	18
Dade Behring	Enzygnost HBsAg 5.0	1	1
Diasorin	LIAISON HBsAg	11	11
	ETI-MAK-4 (HBsAg)	4	4
DPC	Immulate HBs Ag	8	8
Ortho Diagnostics	Vitros Eci HBsAg	15	15
Roche	Modular HBsAg	7	7
	Elecsys HBsAg	6	6
Totaal		190	190

Tabel 6.2.8. Reagentia gebruikt voor de confirmatie van HBs Ag

Fabrikant	Reagens	S/4661	S/4670
Abbott	AxSYM HBsAg confirmatory	4	4
	Architect HBsAg confirmatory	2	-
Beckman (verdelers Analis)	Access HBsAg confirmatory	2	2
bioMérieux	VIDAS HBs Ag confirmatory	2	-
DPC	Immulate HBs Ag confirmatory	1	-
Ortho Diagnostics	Vitros Eci HBsAg confirmatory	4	2
Totaal		15	8

Tabel 6.2.9. Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-HBs As

Fabrikant	Reagens	S/4661	S/4670
Abbott	AxSYM AUSAB	55	55
	Architect AUSAB	23	23
	IMX AUSAB	1	1
Bayer	Centaur anti-HBs	12	12
Beckman (verdelers Analis)	Access HBsAb	19	19
bioMérieux	VIDAS anti-HBs Totaal	20	21
Diasorin	LIAISON anti-HBs	12	12
	ETI-AB-AUK-3 (anti-HBs)	3	3
	AB-AUK-3 (anti-HBs)	1	1
DPC	Immulite anti-HBs	10	10
Ortho Diagnostics	Vitros ECi anti-HBs	16	16
Roche	Modular anti-HBs	8	8
	Elecsys anti-HBs	6	6
Totaal		186	187

Tabel 6.2.10. Reagentia gebruikt voor de bepaling van totale anti-HBc As

Fabrikant	Reagens	S/4661	S/4670
Abbott	AxSYM CORE	58	58
	Architect CORE	22	22
Bayer	Centaur HBc Totaal	12	12
Beckman (verdelers Analis)	Access HBcAb	25	25
bioMérieux	VIDAS anti-HBc Totaal II	19	19
Dade Behring	Enzygnost anti-HBc Monoclonal	1	1
Diasorin	LIAISON anti-HBc	13	13
	ETI-AB-COREK-2 (anti-HBc)	2	2
	ETI-AB-COREK PLUS	1	1
DPC	Immulite anti-HBc	6	6
Ortho Diagnostics	Vitros ECi anti-HBc	10	10
Roche	Modular anti-HBc	7	7
	Elecsys anti-HBc	5	5
Totaal		181	181

Tabel 6.2.11. Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-HBc IgM

Fabrikant	Reagens	S/4661	S/4670
Abbott	AxSYM CORE-M	3	2
bioMérieux	VIDAS HBc IgM II	2	2
Ortho Diagnostics	Vitros ECi anti-HBc IgM	2	2
Niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd	2	-
Totaal		11	6

Tabel 6.2.12. Reagentia gebruikt voor de bepaling van HBe Ag

Fabrikant	Reagens	S/4661	S/4670
Abbott	AxSYM HBe 2.0	26	25
	Architect HBeAg	11	9
bioMérieux	VIDAS HBe/Anti HBe	57	43
Diasorin	LIAISON HBeAg	11	10
	ETI-EBK (HBeAg/anti-HBe)	4	4
Ortho Diagnostics	Vitros ECi HBeAg	2	2
Roche	Modular HBeAg	4	4
Totaal		115	97

Tabel 6.2.13. Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-HBe As

Fabrikant	Reagens	S/4661	S/4670
Abbott	AxSYM anti-HBe 2.0	30	25
	Architect anti-HBe	11	11
bioMérieux	VIDAS HBe/Anti HBe	49	37
Diasorin	LIAISON anti-HBe	11	10
	ETI-EBK (HBeAg/anti-HBe)	3	3
Ortho Diagnostics	Vitros ECi anti-HBe	3	3
Roche	Modular anti-HBe	4	4
Totaal		111	93

6.2.3. Resultaten

6.2.3.1 Staal S/4661

De resultaten die de laboratoria geantwoord hebben voor de verschillende parameters zijn weergegeven in tabel 6.2.14.

Tabel 6.2.14. Resultaten voor staal S/4661

	HBs Ag ¹	HBs Ag conf	HBs As	HBc tot As	HBc IgM	HBe Ag	HBe As
Positief	187	15	1	179	-	-	111
Negatief	-	-	184	2	8	115	-
Geen antwoord	1	-	1	-	1	-	-
Totaal	188	15	186	181	9	115	111

¹ Laboratoria die het HBs Ag met 2 technieken bepaalden, bekwamen 2 maal een positief resultaat.

Voor de meest gebruikte kits van de parameters waar een beoordeling van het kwantitatief resultaat relevant is, hebben we, voor zover de laboratoria dit kwantitatief resultaat geantwoord hebben, de mediaan, minimum en maximum berekend. Deze resultaten worden weergegeven in tabellen 6.2.15. tot en met 6.2.17.

Voor de andere kits zijn het aantal gebruikers of het aantal gebruikers dat een kwantitatief resultaat antwoordde te gering om adequate statistische berekeningen op uit te voeren.

Tabel 6.2.15. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor HBsAg voor staal S/4661

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
AxSYM HbsAg (index s/co)	55	378,54	161,6	527,8
Acces HbsAg (index s/co) ¹	23	652	541,25	893
VIDAS HBs Ag (index)	11	15,6	7,83	21,93
Vitros Eci HBsAg (index)	14	6055	5190	6700

¹ Tevens gaf één laboratorium het antwoord 133.95.

We vermeldden verder ook dat 21 laboratoria een resultaat > 250 iu/ml antwoordden voor Architect HBsAg, 10 laboratoria een resultaat > 1000 (index) antwoordden voor Centaur HBsAg en 11 laboratoria een resultaat > 240 (index) voor Liaison HBsAg.

Tabel 6.2.16. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor totale anti HBc As voor staal S/4661

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
Architect CORE (index s/co)	18	11,17	6	28,27
AxSYM CORE (index s/co) ¹	63	0,062	0,03	0,137
Acces HbcAb (index s/co) ²	21	141,75	101,28	166
Vitros Eci HBsAg (index)	7	0,01	0,01	0,03

¹ Tevens gaven enkele laboratoria antwoorden in andere eenheden. Het laboratorium dat «negatief» antwoordde, gaf een index van 0.36 weer.

² Tevens gaf één laboratorium het antwoord 683.54.

We vermeldden verder ook dat 11 laboratoria een resultaat > 8 (index) antwoordden voor Centaur HBc Total, 15 laboratoria een antwoord 0 (index) gaven voor VIDAS anti-HBc Total II (andere antwoorden voor deze kit waren -1 en 1.75) en 13 laboratoria een resultaat < 0.10 (index) voor Liaison anti-HBc antwoordden.

Tabel 6.2.17. Mediaan, minimum en maximum voor anti-HBe As (staal S/4661)

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
Architect Anti-HBe	10	0,01	0,008	0,02
AxSYM anti-HBe 2.0 (index s/co)	28	0,076	0,045	0,164

We vermeldden verder ook dat 27 laboratoria een antwoord 0 (index), 12 een antwoord 0.01, 1 een antwoord 0.02, 2 een antwoord 0.03 en 1 een antwoord 0.04 gaven voor VIDAS HBe/anti-HBe; voor Liaison anti-HBe antwoordden 10 laboratoria < 0.1 (index) en één 0.1.

In tabel 6.2.18 worden de door de laboratoria voorgestelde interpretaties weergegeven.

De meeste laboratoria kozen voor «Infectie met het hepatitis B virus» (code 2); één laboratorium voor «Immunititeit na hepatitis B vaccinatie» (code 3) en twee voor «Immunititeit ten gevolge van een natuurlijke infectie met het hepatitis B virus» (code 4); één laboratorium stelde «Immunititeit of chronische infectie» voor; nog andere gaven eigen interpretaties (meestal betrof het hierbij chronische infectie of dragerschap).

Tabel 6.2.18. Interpretaties voor staal S/4661

Interpretatie	Aantal labo
Infectie met het hepatitis B virus	169
Infectie met het hepatitis B virus onder voorbehoud; te weinig staal voor confirmatie	1
Immunititeit ten gevolge van een natuurlijke infectie met het hepatitis B virus	2
Immunititeit na hepatitis B virus vaccinatie	1
Chronische infectie met het hepatitis B virus (drager zonder antilichamen) of Immunititeit ten gevolge van een natuurlijke infectie met het hepatitis B virus	1
Chronische infectie door het hepatitis B virus	2
Chronische infectie door het hepatitis B virus met goede prognose	1
Chronische infectie door het hepatitis B virus (of recente infectie: afhankelijk van resultaat van IgM)	1
Chronische infectie door het hepatitis B virus (drager)	1
Chronisch drager die geen anti-HBS produceert of zeer vroege infectie	1
Dragerschap	2
Dragerschap of infectie met HBV	2
Dragerschap of acute infectie met HBV	1
1) mogelijk chronische carrier of 2) mogelijk vals positieve HBs Ag test bij immune patiënt: HBV PCR, transaminasen en hepatoloog raadplegen	1
Geen interpretatie mogelijk gezien onvolledige serologie ¹	2
Totaal	188

¹ Dit betreft één laboratorium dat HBsAg, HBsAs en HBcAs bepaalde en één dat HBsAg en HBcAs bepaalde.

Voor de interpretatie «Infectie met het hepatitis B virus» worden in de volgende tabellen de opmerkingen gegeven door de laboratoria en, in geval ze bijkomende testen aanraadden, deze bijkomende testen, weergegeven

Tabel 6.2.19. Opmerkingen verstrekt voor staal S/4661 door de laboratoria die «Infectie met het hepatitis B virus» geantwoord hebben

Opmerking	Aantal labo's
Een bevestiging is niet nodig	80
Complementaire testen	52
Nieuwe afname na 3 weken	18
Complementaire testen + Nieuwe afname na 3 weken	2
Nieuwe afname na 3 weken en Een bevestiging is niet nodig ¹	1
Ofwel windowperiode: te controleren binnen 3 maanden; Ofwel chronische drager: als normale transaminasen: «gezond» (geen replicanten), als gestoorde transaminasen: HBV DNA (precore mutant)	1
Opvolging in de tijd om te objectiveren of al dan niet chroniciteit; als dit het geval is, PCR om precore mutant uit te sluiten	1
Totaal	155

¹ Als dusdanig geantwoord

Tabel 6.2.20. Overzicht van de complementaire testen die laboratoria, welke voor staal S/4661 «Infectie met het hepatitis B virus» geantwoord hebben, aanraadden

Bijkomende testen	Aantal labo's
HBV PCR/viraal DNA	11
Viraal DNA en transaminasen	1
Viraal DNA en controlestaal	1
Viraal DNA op controlestaal	1
HBc IgM	3
HBc IgM en HBV PCR/viraal DNA	4
HBc IgM en HBs Ag confirmatie	3
HBc IgM en HBV PCR/viraal DNA en HBs Ag confirmatie	1
HBs Ag confirmatie	6
HBs Ag confirmatie en viraal DNA	1
HBe Ag en HBe As	6
HBe Ag en HBe As en HBc IgM	2
HBe Ag en HBe As en HBc IgM en HBV PCR	1
HBe Ag en HBe As en HBs Ag confirmatie	1
HBe Ag en HBe As en controlestaal	1
Hbe Ag	2
Hbe Ag en HBs Ag confirmatie	1
Hbe Ag en HBc As	1
Hbe Ag en HBc As en viraal DNA	1
HBe Ag en HBV PCR	2
HBe Ag en controlestaal	1
ELISA test firma Behring	1
Binnen 3 maanden de 5 testen (HBsAg, HBsAs, HBcAs, HBeAg en HBeAs) herhalen	1
Niet gepreciseerd	1
Totaal	54

6.2.3.1 Staal S/4670

De resultaten die de laboratoria geantwoord hebben voor de verschillende parameters zijn weergegeven in tabel 6.2.21.

Tabel 6.2.21. Resultaten voor staal S/4670

	HBs Ag ¹	HBs Ag conf	HBs Ac	HBc tot Ac	HBc IgM	HBe Ag	HBe Ac
Positief	46	-	-	4	-	-	-
Positief/Borderline ¹	1	-	-	-	-	-	-
Positief/Negatief ¹	1	-	-	-	-	-	-
Borderline	10	-	-	1	-	-	-
Negatief	129	8	186	176	5	97	93
Geen antwoord	1	-	1	-	1	-	-
Totaal	188	8	187	181	6	97	93

¹ Dit betreft laboratoria die de bepaling met 2 verschillende kits uitvoerde en met beide een verschillend resultaat bekwamen

De vals niet-negatieve resultaten werden bekomen met volgende kits:

- voor HBs Ag: 49 AxSYM HBsAg, 2 Liaison HBsAg, 1 Access HBsAg, 1 Modular HBsAg, 1 Centaur HBsAg, 1 VIDAS HBsAg, 1 Prism HBsAg, 1 Immulite HBs Ag, 1 Elecsys HBsAg en 1 ETI-MAK-4
- voor HBc As: 2 AxSYM CORE, 1 Modular anti-HBc, 1 ETI-AB-COREK-2 en 1 Centaur HBc Total

Een overzicht van de vals niet-negatieve resultaten per laboratorium kan als volgt weergegeven worden:

- 52 laboratoria : Ag HBs
- 5 laboratoria : Ag HBs + Ac HBc
- 1 laboratorium : 2 Ag HBs

De firma Abbott werd gecontacteerd met de vraag dit staal te onderzoeken.

Hun onderzoek leverde de volgende resultaten op:

- HBsAg
 - o Vals positief resultaat werd bevestigd met AxSYM HBsAg
 - o Confirmatie met de AxSYM HBsAg Confirmatory dient als negatief beschouwd
 - o De bijsluiter vermeld dat reactieve stalen eerst in duplo hertest moeten worden en bij herhaling van de reactiviteit geconfirmeerd; pas als deze confirmatietest positief is, kan van een reactief staal gesproken worden; stalen waarvan de confirmatietest negatief is, dienen beschouwd te worden als stalen die aspecifieke reacties vertonen

- HBcAs
 - o Vals positief resultaat werd niet bevestigd met AxSYM CORE
 - o De bijsluiter vermeldt dat reactieve stalen eerst in duplo hertest moeten worden; zijn deze beide testen negatief, dan moet het staal als negatief beschouwd worden; is één van beide positief, dan dient het staal als reactief beschouwd worden; de resultaten moeten steeds gecorrigeerd worden met de symptomen en met de andere serologische parameters; vals reactieve resultaten kunnen voorkomen met elke diagnostische test

Wij wensen te benadrukken dat alle stalen die gebruikt worden in de enquêtes voor infectieuze serologie humane stalen zijn; op deze wijze wordt de "commutability" tussen een EQC staal en een routinestaal bevorderd. Bij sommige kits kan het dan ook aangewezen zijn troebele stalen aan een extra centrifugering te onderwerpen, net zoals dit bij routinestalen dient te gebeuren. Tevens kan u, om welke reden dan ook, in de loop van een enquête of na afloop van een enquête, een tweede staal aanvragen.

In tabel 6.2.22. worden de door de laboratoria voorgestelde interpretaties weergegeven. De meeste laboratoria kozen voor «Negatieve serologie» (code 1); een aantal laboratoria die een vals positief of borderline resultaat bekwamen, kozen voor «Infectie met het hepatitis B virus» (code 2); enkele onder hebben echter reeds een HBs Ag confirmatietest uitgevoerd en konden op basis daarvan besluiten tot een negatieve serologie. Een aantal laboratoria gaf een eigen interpretatie waarbij sommigen expliciet de (mogelijkheid tot) vals positiviteit vermeldden.

De meerderheid van de laboratoria die «Infectie met het hepatitis B virus» of een variant hierop antwoordden, raadden wel bijkomende testen en/of nieuwe staalname aan. Slechts 4 laboratoria achtten een bevestiging niet nodig.

Tabel 6.2.22. Interpretaties voor staal S/4670

Interpretatie	Aantal laboratoria
Negatieve serologie	137
Infectie met het hepatitis B virus	23
Infectie met het hepatitis B virus of Negatieve serologie	1
Vals positieve HBsAg waarschijnlijk	3
Zwak positief HBsAg resultaat dient bevestigd te worden na neutralisatietest	1
Confirmatie noodzakelijk	7
Twijfelachtig resultaat: confirmatie noodzakelijk	4
Herhaaldelijk reactief, niet confirmeerbaar	1
Vals positieve reactie; HCV infectie	2
Gezien patiënt geelzucht heeft, vermoedelijk andere reden voor geelzucht	1
Doorstuur naar het laboratorium van het WIV	1
Mogelijkheid van zeer vroegtijdige acute fase (ook vals positief uitsluiten)	1
HBsAg positief: vals positief of einde van de vroege acute fase: PCR noodzakelijk	1
Mogelijke infectie met HBV, bevestiging nodig	1
Atypisch beeld; infectie met HBV maar HBe Ag of As zouden ook positief moeten zijn	1
Beginnende infectie	1
Quid recente infectie met enkel HBsAg +	1
Geen interpretatie mogelijk gezien onvolledige serologie ¹	1
Totaal	188

¹ Dit laboratorium bepaalde enkel HBsAg en HBcAs.

Voor de interpretatie «Negatieve serologie» wordt in volgende tabel de opmerkingen gegeven door de laboratoria weergegeven. De twee laboratoria die complementaire testen suggereerden, stelden beiden voor om de HBs Ag confirmatietest uit te voeren (waarbij 1 van beide deze zelf reeds uitgevoerd heeft).

Tabel 6.2.23. Opmerkingen verstrekt voor staal S/4670 door de laboratoria die «Negatieve serologie» geantwoord hebben

Opmerking	Aantal laboratoria
Een bevestiging is niet nodig	92
Nieuwe afname na 3 weken	7
Complementaire testen	2
Totaal	101

6.3 HCV

6.3.1. De deelnemers

In het totaal bepaalden 177 laboratoria de aanwezigheid van anti-HCV antistoffen op beide stalen.

Eén laboratorium meldde dat het over onvoldoende staal beschikte om deze testen te kunnen uitvoeren. Wij wensen graag te benadrukken dat het gedurende de enquête steeds mogelijk is bijkomende stalen te vragen ongeacht de reden; na het afsluiten van de enquête kunnen overigens eveneens steeds bijkomende stalen gevraagd worden (voor controle, om didactische redenen, ...).

Meerdere laboratoria voerden meer dan één test uit per staal. Tabel 6.3.1. geeft het aantal uitgevoerde testen per staal weer.

Tabel 6.3.1. Aantal uitgevoerde HCV testen per staal

Staal	1 test	2 testen	3 testen	Totaal
S/4661	170	7	-	177
S/4670	160	16	1	177

Er werden dus 184 testen uitgevoerd op staal S/4661 en 195 testen op staal S/4670.

De aard van de uitgevoerde testen wordt weergegeven in tabel 6.3.2.

Tabel 6.3.2. Aard van de uitgevoerde HCV testen per staal

	Staal	
	S/4661	S/4670
1 test		
Elisa	170	160
2 testen		
Elisa + Elisa ¹	5	7
Elisa + Blot	1	4
Elisa + LIA ²	1	5
3 testen		
Elisa + Blot + PCR	-	1
Totaal	177	177

¹ Eén van deze laboratoria heeft voor beide stalen 2 maal dezelfde ELISA-kit gebruikt

² LIA = Line ImmunoAssay

6.3.2. Gebruikte reagentia

Tabel 6.3.3. geeft in aantal weer welke reagentia door de deelnemers gebruikt werden :

Tabel 6.3.3. Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-HCV antistoffen

Fabrikant	Reagens	S/4661	S/4670
Abbott	AxSYM HCV 3.0	64	64
	Architect HCV	26	26
	IMx HCV 3.0	4	4
	PRISM HCV	3	3
	HCV 3rd generation	1	2
Bayer	Centaur HCV	18	18
BioRad	Access HCV Ab Plus op toestel Access ¹	19	19
	Access HCV Ab Plus op toestel Unicel DxI 800 ¹	9	9
	Monalisa Anti-HCV Plus Version 2	4	5
	DeciScan HCV Plus	-	1
Innogenetics	Innotest HCV Ab IV	5	5
	Innolia HCV Ab III update	-	1
	Innolia HCV score	1	4
Mikrogen (verdelers Euribel)	recomBlot HCV IgG	-	1
Ortho Diagnostics	Vitros ECI anti-HCV	15	15
	HCV version 3.0 Elisa	14	14
	Chiron RIBA HCV 3.0 SIA	1	3
Niet gepreciseerd	HCV RNA RT PCR (Taqman)	-	1
Totaal		184	195

6.3.3. Resultaten

6.3.3.1 Staal S/4661

Een overzicht van de kwalitatieve interpretatie van de resultaten van staal S/4661 wordt weergegeven in tabel 6.3.4.

Tabel 6.3.4. Kwalitatieve resultaten voor HCV voor staal S/4661

Resultaat	Aantal labo's
Positief	1
Negatief	176
Totaal	177

De laboratoria die 2 bepalingen uitvoerden, bekwamen met beide methoden eenzelfde (negatief) resultaat (ongeacht de aard van deze methoden). Het laboratorium dat een positief antwoord gaf, heeft waarschijnlijk beide stalen omgewisseld.

Op de vraag of ze dit staal in routine naar een referentiecentrum zouden doorsturen antwoordden 176 laboratoria «neen» en 1 «ja». Het laboratorium dat «ja» antwoordde was hetgene dat de stalen wellicht verwisselde.

6.3.3.2 Staal S/4670

Een overzicht van de kwalitatieve interpretatie van de resultaten van staal S/4670 wordt weergegeven in tabel 6.3.5.

Tabel 6.3.5. Kwalitatieve resultaten voor HCV voor staal S/4670

Resultaat	Aantal labo's
Positief	174
Negatief	2
Borderline	1
Totaal	177

De laboratoria die 2 of 3 bepalingen uitvoerden, bekwamen met alle methoden eenzelfde (positief) resultaat. Eén van beide laboratoria dat een negatief antwoord gaf, heeft waarschijnlijk beide stalen omgewisseld. In het tweede geval gaat het vermoedelijk om een onachtzaamheid bij het invullen (de door dit laboratorium geantwoorde kwantitatieve waarde ligt, komt duidelijk overeen met een positief resultaat).

Voor de meest gebruikte methoden waarbij het kwantitatieve resultaat geantwoord werd, hebben we minimum, maximum en mediaan bepaald. Deze gegevens worden weergegeven in tabel 6.3.6. Voor de kit HCV version 3.0 Elisa (Ortho Diagnostics) werden de resultaten in verschillende eenheden gerapporteerd zodat een adequate statistische verwerking niet mogelijk is. Voor de kit Centaur HCV (Bayer) hebben 16 laboratoria het resultaat > 11.0 geantwoord.

Tabel 6.3.6. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor HCV-antistoffen voor S/4670 voor de meest gebruikte kits (de resultaten worden telkens uitgedrukt in index (sample/cut-off)).

Fabrikant + reagens	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
Abbott				
Architect HCV	25	13,23	11	14,5
AxSYM HCV 3.01	61	90	48,34	130,24
BioRad				
Access HCV Ab Plus op toestel Access2	18	7,945	6,89	8,6
Access HCV Ab Plus op toestel Unicel	9	7,29	6,44	8,81
Ortho Diagnostics				
Vitros ECI anti-HCV3	15	22,8	21	32,1

¹ Het resultaat van het laboratorium dat vermoedelijk de stalen verwisselde werd niet in aanmerking genomen voor deze verwerking.

² Gezien het laboratorium dat «negatief» antwoordde, een kwantitatief resultaat van 7.94 antwoordde, werd dit in deze verwerking opgenomen.

³ Het laboratorium dat «borderline» antwoordde, bewam een kwantitatief resultaat van 24.2.

Op de vraag of ze dit staal in routine naar een referentiecentrum zouden doorsturen antwoordden 98 laboratoria «ja» en 78 «neen». 1 laboratorium gaf geen antwoord op deze vraag.

Onder de laboratoria die «neen» antwoordden, bevinden zich 4 laboratoria die het resultaat van een blottest geantwoord hebben (1 hiervan heeft tevens het resultaat van een PCR geantwoord) en 5 die het resultaat van een LIA-test geantwoord hebben. Tevens vermeldden 3 van de laboratoria die «neen» antwoordden dat een confirmatie via PCR aangewezen is (1 laboratorium vermeldde deze in het eigen laboratorium uit te voeren; een ander vermeldde dat, naast PCR, ook een tweede serologische test zou aangewezen zijn); twee raadden de bepaling van HCV RNA aan en twee laboratoria vermeldden dat bij hoge kwantitatieve resultaten een confirmatie niet nodig is (één laboratorium verwijst hiervoor naar bestaande richtlijnen).

6.4 Commentaar op de resultaten van het onderzoek

Er werden twee stalen, vergezeld van de klinische inlichting «geelzucht», verstuurd. Het kwam er op neer een infectie door het hepatitis B en/of C virus te bevestigen of uit te sluiten.

Staal S/4661

Hepatitis B

Er werden zeer verschillende combinaties van testen uitgevoerd, waarschijnlijk deels te wijten aan de beschikbaarheid van de testen in de laboratoria; maar in alle gevallen werd de belangrijkste test, het HBsAg, uitgevoerd. Met uitzondering van één laboratorium, dat geen antwoord verstreekte, bekwamen allen een positief resultaat voor HBsAg.

In het kader van geelzucht in aanwezigheid van totale anti-HBc antistoffen en HBsAg, is het nuttig om HBeAg, anti-HBeAs en anti-HBc IgM te bepalen, ten einde een acute hepatitis B infectie al dan niet te bevestigen.

Deze testen werden ofwel uitgevoerd door de laboratoria, ofwel voorgesteld als complementaire testen. Alle resultaten voor HBeAg en anti-HBeAs waren correct. De 8 laboratoria die de anti-HBc IgM bepaald hebben, bekwamen allen een negatief resultaat.

Voor het opsporen van het virale DNA via PCR is over het algemeen geen plaats in de diagnose van een acute hepatitis; het kan echter wel zinvol zijn bij chronische hepatitis wanneer de serologie niet duidelijk is (geïsoleerde anti-HBc, seronegatieve chronische hepatitis...). De kwantitatieve bepaling van het virale DNA is wel aangewezen voor het instellen van een antivirale therapie en bij de opvolging van een chronische hepatitis B.

De meerderheid van de laboratoria bekwam aldus de verwachte resultaten en gaf de correcte klinische interpretatie «Infectie met het hepatitis B virus».

Wat betreft de andere interpretaties:

« Immuniteit » : immuniteit is gebonden aan de aanwezigheid van anti-HBs As. De immuniteit is het gevolg van een vaccinatie indien de anti-HBs As geïsoleerd voorkomen; indien deze vergezeld zijn van anti-HBc As, is de immuniteit te wijten aan een vroeger doorgemaakte infectie. In beide gevallen is het HBsAg negatief.

« Chronische infectie » : deze wordt gedefinieerd als het persisteren van de aanwezigheid van het HBsAg 6 maanden na de acute periode. Hoewel de afwezigheid van anti-HBc IgM in deze richting kan wijzen, laat enkel de aanwezigheid van het HBsAg op een tweede staal, afgenomen minstens 6 maanden na het 1^e, toe om tot deze interpretatie te besluiten.

Hepatitis C

Het verwachte, negatieve, resultaat werd, op één na, door alle laboratoria geantwoord. Dit ene laboratorium heeft beide stalen omgewisseld.

Staal S/4670

Hepatitis B

Het betrof een staal dat negatief was voor alle hepatitis B parameters.

58 op 188 laboratoria bekwamen een positief of borderline resultaat voor HBsAg. Dit resultaat werd bekomen met verschillende kits, maar het valt op dat de meerderheid van de Axsym gebruikers dit probleem hadden. De firma Abbott werd gecontacteerd en antwoordde dat reactieve stalen in duplo hertest moeten worden en bevestigd in geval van herhaalbaarheid van de reactiviteit.

In de praktijk is het niet de gewoonte deze procedure uit te voeren voor elk positief staal. Inderdaad, ingeval van een duidelijk positief HBsAg, vergezeld van anti-HBc As, betreft het duidelijk een HBV-infectie.

De aanwezigheid van een HBsAg in afwezigheid van anti-HBcAs daarentegen is een zeer zeldzame situatie. Dit serologisch profiel kan vastgesteld worden tijdens de incubatieperiode van het HBV, voor de klinische symptomen en leverstoornissen optreden; meestal betreft het dus een toevallige vondst. In geval van dergelijke resultaten is het dus noodzakelijk een confirmatietest uit te voeren en/of deze parameters te hertesten op een tweede staal.

Dergelijke handelwijze moet eveneens gebeuren als het HBsAg zwak positief is, ook in aanwezigheid van anti-HBc As.

De laboratoria die een confirmatietest uitgevoerd hebben, bekwamen finaal allen een negatief resultaat voor het HBsAg en gaven de correcte interpretatie. Verschillende laboratoria die wellicht geen confirmatietest uitvoeren, hebben de bepaling hiervan voorgesteld bij de interpretatie.

De overige parameters vormden geen probleem, op uitzondering van anti-HBc As, die door 5 laboratoria positief of borderline werden bevonden.

Hepatitis C

Nagenoeg alle laboratoria bekwamen het verwachte, positieve, resultaat.

Eén laboratorium dat een negatief resultaat antwoordde, meldde dat het een staalverwisseling betrof. In de beide andere negatieve resultaten, betreft het waarschijnlijk een transcriptiefout aangezien de geantwoorde index-waarde niet overeenkomt met een positief of borderline resultaat. We herinneren eraan dat de kwaliteitscontrole niet enkel de technische uitvoering van de analyse omvat, maar eveneens de interpretatie van de resultaten en het correct overschrijven ervan.

Betreffende het verzenden naar een referentiecentrum zijn de meningen verdeeld vermits 56% der deelnemers «ja» en 44% «neen» geantwoord hebben.

Hoewel de 3^e generatie screeningstesten een gevoeligheid en specificiteit vertonen die verhoogd is ten opzichte van de vorige generaties, blijft er een belangrijk percentage fout positieven bestaan, vooral bij groepen met een lage prevalentie. In afwezigheid van risicofactoren of van een suggestieve klinische of biologische context, is het dus aan te raden een positief resultaat te confirmeren; dit kan gebeuren door gebruik te maken van een andere screeningstest of een immunoblot, afhankelijk van wat voorhanden is in het laboratorium en de mogelijkheden tot het versturen naar een referentiecentrum. Gezien de aanwezigheid van antistoffen niet toelaat om het onderscheid te maken tussen een actieve en een oude genezen infectie kunnen deze serologische testen aangevuld worden met het opsporen van het viraal genoom via PCR. Het is niet aangewezen deze test uit te voeren op een serum dat reeds gemanipuleerd werd voor het opsporen van de antistoffen en dus moet men een tweede staal vragen. Tezelfdertijd laat deze bepaling op een tweede

staal toe om identificatie- of afnamefouten die bij de eerste staalname gebeurd zouden zijn uit te sluiten.

In een context van (acute of chronische) hepatitis, maakt het aantonen van anti-HCV antistoffen met een screeningstest de diagnose van HCV zeer waarschijnlijk en kan dit dan bevestigd worden door het opsporen van het viraal genoom via PCR. Enkele speciale gevallen dienen vermeld te worden: de antistoffen kunnen negatief zijn in de vroegtijdige fase van een acute HCV-infectie; ook bij een immuungedeprimeerde patiënt die chronisch drager is van het virus kunnen de antistoffen negatief of slechts zwak positief zijn.

ML Delforge, ULB ERASMUS Hospitaal, Brussel