

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 03/2007

#### Microbiologie

*Klebsiella pneumoniae*  
*Listeria monocytogenes*  
*Staphylococcus aureus*  
*Streptococcus agalactiae*  
Gram kleuring: Gram negatieve staven (*E. coli*)

#### Parasitologie

*Plasmodium ovale*  
*Plasmodium malariae*

#### Serologie

HIV  
Brucella

**Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website :**  
[http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external\\_quality/rapports/\\_nl/rapports\\_annee.htm](http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_nl/rapports_annee.htm)

## COMITE VAN EXPERTEN VOOR MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE

WIV (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. DE BEENHOUWER Hans : 053/72.42.72 – FAX : 053/72.45.88  
: e-mail : hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be  
Dr. DE GHELDRE Yves : 02/340.41.34 – FAX : 02/340.41.79  
: e-mail : yves.degheldre@chirec.be  
Dr. DEDISTE Anne : 02/535.45.42  
: e-mail : anne\_dediste@stpierre-bru.be  
Dr. DELFORGE Marie-Luce : 02/555.34.53 – FAX : 02/555.64.59  
: e-mail : mdelforg@ulb.ac.be  
Dr. LAGROU Katrien : 016/34.70.98 – FAX : 016/34.79.31  
: e-mail : katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be  
Apr. LONTIE Marc : 016/31.01.72 – FAX : 016/31.01.88  
: e-mail : marc.lontie@mchlvwo.be  
Dr. 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@uzbrussel.be  
Dr. PIERARD Denis : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15  
: e-mail : denis.pierard@uzbrussel.be  
Dr. REYNDERS Marijke : 02/535.45.35 – FAX : 02/535.46.56  
: e-mail : marijke\_reynders@stpierre-bru.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 3<sup>e</sup> evaluatie van het jaar 2007 (enquête 2007/3) werd volgend materiaal verzonden op 1 oktober 2007.

- 1.1. 4 gelyofiliseerde monsters voor identificatie en 1 uitstrijkje voor Gram kleuring.  
Voor 2 monsters werden de resultaten van de gevoeligheidstesten gevraagd.
- 1.2. Twee bloeduitstrijkjes voor parasitologisch onderzoek.
- 1.3. 3 plasmamonsters voor de bepaling van HIV en Brucella.

### AANTAL DEELNEMERS

Het aantal evalueerbare antwoordbulletins bedroeg :

1.	Voor identificatie en antibiogram	: 183
2.	Voor parasitologie	: 183
3.	Voor de serologie	:
	HIV	: 181
	Brucella	: 95

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

## II. IDENTIFICATIES

### 2.1. Cultuur M/6151 *Listeria monocytogenes* uit lumbaal vocht

De vorige rondzending van een *Listeria monocytogenes* stam dateert van 2001. In het globaal rapport microbiologie 2001/3 werd een commentaar geschreven over de algemene kenmerken van deze bacterie.

De resultaten van de identificaties zijn bij deze rondzending vergelijkbaar met de resultaten van 2001. De stam werd door 93.4 % van de deelnemers correct geïdentificeerd tot op het species niveau en door 97.8 % tot op het genus niveau. Eén laboratorium identificeerde de stam als *Listeria innocua*. Dit kan niet goed gerekend worden aangezien deze bacterie een andere klinische betekenis heeft.

Identificatie van stammen uit normaal steriele materialen zoals bloed en lumbaal vocht stelt in de regel weinig problemen als men denkt aan de mogelijkheid van *Listeria*. Men moet wel op zijn hoede zijn want *Listeria* kan verward worden met andere grampositieve bacteriën zoals corynebacteriën, enterokokken, streptokokken, *Erysipelothrix* en *Lactobacillus*. Identificatie is gebaseerd op volgende typische kenmerken: *Listeria* spp. zijn gram positieve staafjes die tollend bewegen. Ze zijn galesculine en katalase positief.

Identificatie tot op species niveau is niet gemakkelijk en is gebaseerd op verschillen in biochemische kenmerken en hemolyse bij de CAMP test. *Listeria monocytogenes* vertoont op bloedagar meestal een discrete beta-hemolyse. Bij de CAMP test is er een beperkte versterking van de hemolyse in de nabijheid van de streepenting met *Staphylococcus aureus*. Commerciële systemen, zoals API *Listeria* zijn betrouwbaar met meer dan 95% juiste identificaties.

*Listeria innocua* is niet hemolytisch en wordt uitzonderlijk geïsoleerd uit klinische monsters. In het referentielaboratorium werden in 2006 twee stammen *Listeria innocua* geïdentificeerd. De eerste stam werd geïsoleerd bij een patiënt van 26 jaar met een oorabces en de tweede stam werd gekweekt uit bloed bij een patiënte met sepsis en een mammacarcinoom.

Aangezien bijna alle *Listeria* stammen uit normaal steriele materialen behoren tot de species *monocytogenes* zal een identificatie op basis van typische kenmerken en hemolyse volstaan, mits de stam wordt opgestuurd naar het referentielaboratorium voor confirmatie.

In het nationaal referentiecentrum worden de stammen ook getypeerd. Op deze wijze kunnen clusters van listeriose worden opgespoord.

Opsporen van *Listeria* uit normaal niet steriele materialen zoals feces vereist specifieke aanrijking en wordt in de routinelaboratoria normaal niet uitgevoerd.

Listeriose komt, zoals in de andere geïndustrialiseerde landen, zelden voor in België. In België waren er in 2006 0,56 gevallen per 100 000 inwoners. Een jaarlijkse incidentie tussen 0,2 tot 0,6 gevallen/100 000 inwoners wordt normaal beschouwd. Soms komen clusters van meerdere gevallen voor. De incidentie neemt in ons land de laatste jaren niet af. In Nederland en nog enkele andere Europese landen is er eerder een toename. In landen die vroeger een hogere incidentie hadden zoals Frankrijk is het aantal gevallen gedaald dankzij een betere voedselveiligheid.

Peri-natale listeriose vertegenwoordigt ongeveer 5 % van alle gevallen die gemeld worden in België. Voor de periode 2000-2006 waren 15 stammen afkomstig van de moeder en 22 van de neonaten. Bij early-onset neonatale listeriose (infectie bij of onmiddellijk na

de geboorte) betreft het hoofdzakelijk sepsis en veel minder meningitis. *Listeria meningitis* bij de zwangere vrouwen is uiterst zeldzaam.

In 2006 werden 6 stammen geïsoleerd uit cerebrospinaal vocht bij volwassenen met meningitis. Volwassenen met listeriose hebben meestal een onderliggend lijden of zijn ouder dan 50 jaar. Meningitis door *Listeria monocytogenes* is klinisch niet te onderscheiden van andere vormen van bacteriële meningitis. Er kan wel een atypisch verloop zijn, bijvoorbeeld: subacut verloop dat lijkt op tuberculeuze meningitis, afwezigheid van nekstijfheid, ... Een normale glucoseconcentratie in het cerebrospinaal vocht komt voor in meer dan 60 % van de gevallen. Een overwicht van mononucleaire cellen in het cerebrospinaal vocht is aanwezig bij een derde van de gevallen, in de meeste gevallen is er een overwicht van polymorfonucleairen.

Sepsis is de meest voorkomende aandoening bij de niet-perinatale listeriose. In 2006 werden 44 gevallen geregistreerd in België.

Resistentie tegen antibiotica is voor humane stammen meestal geen probleem in België. Criteria voor interpretatie van MIC waarden van ampicilline, penicilline en trimethoprim-sulfamethoxazole zijn beschikbaar bij CLSI. Gevoeligheidsbepalingen kunnen uitgevoerd worden met behulp van E-test. Van de stammen geïsoleerd in 2006 in België was 1 stam intermediair resistent tegen streptomycine en 2 stammen resistent tegen ciprofloxacine. 1 stam was verminderd gevoelig aan ampicilline (MIC=1 µg/ml).

Waakzaamheid is geboden. Rapporten uit Turkije en de Verenigde Staten vermelden dat bij stammen geïsoleerd uit vlees en bij melkvee, resistentie tegen ampicilline en andere antibiotica veel hoger kan zijn dan bij humane stammen.

Houd er ook rekening mee dat *Listeria monocytogenes* natuurlijk resistent is tegen cefalosporines. Dit is de reden waarom bij de empirische behandeling van meningitis een combinatie wordt gebruikt van ampicilline met een derde generatie cefalosporine.

Koen Magerman, Virga Jesse ziekenhuis, Hasselt

## REFERENTIES

1. Claeys G., Cultuur M/3029 *Listeria monocytogenes*, Globaal rapport microbiologie 2001/3, [http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external\\_quality/rapports/\\_down/microbiologie/2001/3N\\_MICROBIO.pdf](http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_down/microbiologie/2001/3N_MICROBIO.pdf)
2. Lorber B., *Listeria monocytogenes* in Mandell G. et al., Principles and Practice of Infectious Diseases, sixth ed., 2004
3. Bille J., *Listeria* and *Erysipelothrix* in Murray P. et al., Manual of Clinical Microbiology, 9<sup>th</sup> ed., 2007
4. Yde M., Centre National de Référence des *Listeria*, Rapport annuel Souches de *Listeria* isolées en Belgique en 2006, [http://www.iph.fgov.be/bacterio/iframes/rapports/2006/Listeria\\_2006\\_FR\\_web.pdf](http://www.iph.fgov.be/bacterio/iframes/rapports/2006/Listeria_2006_FR_web.pdf)
5. Swaan C.M. et al., Twee clusters van listeriose in de Randstad, Infectieziekten Bulletin, jaargang 17 nummer 05, 2006, 178-182
6. CLSI, Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria; M45-A

## 2.2. Cultuur M/7598 *Streptococcus agalactiae* (sputum)

$\beta$ -hemolytische streptokok van Lancefield groep B.  
Grampositieve kokken in korte kettingen

### Epidemiologie en klinisch belang

*S. agalactiae* werd eerst beschreven als een oorzaak van mastitis bij runderen op het einde van de 19<sup>e</sup> eeuw. Bij de mens rekent men *S. agalactiae* tot de normale commensale flora van colon, genitale tractus en in mindere mate van de bovenste luchtwegen. Deze  $\beta$ -hemolytische streptokokken zijn wereldwijd een belangrijke oorzaak van ernstige neonatale infecties (1,2). «Early-onset» neonatale infecties treden op tijdens de eerste levensweek, meestal tijdens de eerste 24 uur. Ze worden tijdens de geboorte verworven via verticale transmissie van moeder op kind en zijn vaak geassocieerd met pneumonie (3). «Late-onset» infecties daarentegen treden gewoonlijk op tussen het einde van de eerste levensweek en de leeftijd van 3 maanden; zijn meestal het gevolg van horizontale transmissie en worden vooral gekenmerkt door sepsis en meningitis (4). De belangrijkste risicofactor voor sepsis en neonatale infecties is de kolonisatie van de uro-genitale en/of intestinale tractus van de moeder op het einde van de zwangerschap. Tien tot 40% van de vrouwen zijn intermitterend gekoloniseerd thv de vaginale mucosa met deze  $\beta$ -hemolytische streptokokken.

Bij volwassenen veroorzaakt *S. agalactiae* zowel postpartale infecties als bacteriëmie, endo-carditis, urineweginfecties, huid en weke delen infecties en pneumonie. Deze systemische infecties treden vooral op bij patiënten met diabetes, chronisch alcoholabusus en oncologische aandoeningen (5).

Van het polysaccharide kapsel zijn 9 serotypen gekend (Ia, Ib en II-VIII). Serotypes Ia en III zijn verantwoordelijk voor meer dan 70% van de humane infecties, serotypes VII en VIII zijn minder belangrijk (6).

### Cultuur

*S. agalactiae* groeit vlot op de meeste niet-selectieve cultuurbodems. Op bloedagar bemerkt men na 24 uur incubatie relatief grote lichtgrijze kolonies met een smalle zone van  $\beta$ -hemolyse. Ook deze niet-hemolytische stammen kunnen zeker pathogeen zijn. Ongeveer 2 tot 3% van de stammen zijn niet-hemolytisch. De Belgische Hoge Gezondheidsraad raadt aan om alle zwangeren rond de 35<sup>e</sup>-37<sup>e</sup> zwangerschapsweek te screenen met de afname van een vaginorectale wisser. Uitzonderingen zijn vrouwen die een vorig kind hadden met een invasieve *S. agalactiae*-infectie en vrouwen met bacteriurie tijdens de huidige zwangerschap omdat zij stelselmatig profylaxe moeten krijgen. De vaginorectale wisser wordt in het laboratorium preferentieel geënt op een selectief aanrijkmingsmedium zoals de LIM-broth. Dit is een Todd-Hewit-broth selectief gemaakt door toevoeging van colistine (10 mg/L) en nalidixinezuur (15 mg/L). Dit medium bevordert de groei van streptokokken en verhindert de groei van de meeste Gramnegatieven (7). Na een overnacht incubatie op 35°C wordt deze bodem overgeënt op een selectieve bodem zoals de Granada bodem. Deze bodem wordt gedurende 48 uur anaëroob geïncubeerd.  $\beta$ -hemolytische *S. agalactiae* groeien als oranje kolonies op deze Granada bodem. Op de Granada bodem maakt men gebruik van de natuurlijke eigenschap dat GBS oranje/rood pigment produceren op media die serum en zetmeel bevatten. Niet-hemolytische groep B-streptokokken vertonen niet-gepigmenteerde kolonies; de genen voor inductie van  $\beta$ -hemolyse zijn immers gelinkt aan de genen voor pigmentproductie. Om ook de niet-hemolytische stammen op te vissen gebruiken de meeste laboratoria daarom een combinatie van Granadabodem en bloedagar.

Een ander nadeel van de Granadabodem is dat anaërobie incubatie vereist is en dat overgroei door *Proteus* kan optreden. Een reeks andere selectieve bodems die een combinatie van verschillende chromogene substraten bevatten worden thans door diagnostische firma's aangeboden (8, 9, 10).

Andere laboratoria gebruiken de «Edwards bodem» die crystal violet en esculine bevat. Na incubatie in 5-10% CO<sub>2</sub> kan *S. agalactiae* herkend worden door de blauwe kleur van de kolonies. *E. faecalis* vormt daarentegen grijs-blauwe kolonies met donkerbruine rand door de hydrolyse van esculine.

### Identificatie

De identificatie van de rondgestuurde stam werd zeer goed uitgevoerd door de meeste laboratoria. 96.7% van de laboratoria stuurden een correct resultaat in. De stam had als ongewoon kenmerk een duidelijke inhibitiezone te vertonen rond een schijfje met bacitracine (0.04 U). Meer dan 99% van *S. pyogenes* zijn gevoelig voor bacitracine zodat deze test zeer geschikt is voor de identificatie van dit species. Voor de interpretatie van een positieve test houdt men rekening met elke inhibitiezone rond een schijfje met een lading van 0.04 U. Men moet er echter rekening mee houden dat 5-10% van de  $\beta$ -hemolytische streptokokken van Lancefield groep B, C en G eveneens gevoelig zijn voor bacitracine.

Zeer nuttig voor de identificatie van *S. agalactiae* zijn de volgende kenmerken:

- negatieve PYR test. *S. agalactiae* bezit niet het pyrrolidonyl arylamidase enzyme - in tegenstelling tot *S. pyogenes* - dat het PYR-substraat afbreekt tot  $\beta$ -naphthylamine dat na toevoegen van het cinnamaldehyde reagens binnen de 2 minuten een dieprode kleur oplevert.
- positieve hippuraat hydrolyse. Het hippuricase enzyme hydrolyseert hippuraat tot Na-benzoaat en glycine dat met ninhydrine een donkerpurpere kleur vormt. Ook sommige streptokokken van groep D kunnen hippuraat hydrolyseren maar zijn ook positief voor hydrolyse van gal-aesculine. Geen enkele *S. agalactiae* hydrolyseert daarentegen aesculine.
- positieve CAMP-test. Groep B-streptokokken produceren een CAMP-factor die na diffundering in de agarbodem met schapen rode bloedcellen de hemolyse van het  $\beta$ -hemolysine van *Staphylococcus aureus* versterkt.
- aanwezigheid van Lancefield groep B. Talrijke commerciële tests zijn verkrijgbaar voor snelle antigeen extractie en daaropvolgende agglutinatie met specifieke sera.

### Gevoeligheid voor antibiotica

*S. agalactiae* blijft voorlopig gevoelig voor penicilline, zodat het uitvoeren van een antibiogram voor  $\beta$ -lactam antibiotica door de CLSI niet wordt aangeraden. Penicilline G is ook het keuzeapparaat voor de intrapartale profylaxie, die, om optimaal actief te zijn minstens 4 uur voor de bevalling gestart moet worden met een dosis van 5 miljoen eenheden I.V., gevolgd door 2,5 miljoen eenheden I.V. om de 4 uur tot de bevalling. Voor penicilline-allergische patiënten met laag risico op anafylaxie raadt men cefazoline aan (2 g IV als begin-dosis). Igv hoog risico op anafylaxie is clindamycine (900 mg I.V.) de eerste keuze. Gezien de stijgende resistentie van *S. agalactiae* tegen clindamycine en erythromycine is het nodig de gevoeligheid voor deze antibiotica te testen. Voor stammen met resistentie tegen clindamycine (constitutief of induceerbaar) is vancomycine de aanbevolen therapie (11).



De stam van deze zending was gevoelig voor erythromycine en clindamycine. Het resultaat van het antibiogram werd echter niet gevraagd.

Voor een uitgebreide beschrijving van de resistentiemechanismen en het uitvoeren van het antibiogram verwijzen we naar het rapport van de zending 2005/2.

Jan Verhaegen, UZ Gasthuisberg, Leuven

## REFERENTIES

1. Katherine J. Gray, Sally L. Bennett, Neil French, Amos J. Phiri, Stephen M. Graham. Invasive group B streptococcal infection in infants, Malawi. *Emerg. Infect. Dis.* 2007, 13 (2) 223-29.
2. Department of health and human services, centers for disease control and prevention. *MMWR.* July 20, 2007, 56 (28) 701-5.
3. Tim Colbourn, Ruth Gilbert. An overview of the natural history of early onset group B streptococcal disease in the UK. *Early human Develop.* 2007, 83, 149-156.
4. Kirsten Fluegge, Anette Siedler, Beate Heinrich, Juergen Shulte-Moenting et al. Incidence and clinical presentation of invasive neonatal group B streptococcal infections in Germany. *Pediatrics* 2006, 117 (6) e1139-e1145.
5. Anouk E. Muller, Paul M. Oostvogel, Eric A.P. Steegers, P. Joep Dörr. Morbidity related to maternal group B streptococcal infections. *Acta Obst. Gynecol.* 2006, 85, 1027-1037.
6. M. Trijbels-Smeulders, G.A. De Jonge, P.C.M. Pasker-De Jong, L.J. Gerards, A.H. Adriaanse, R.A. van Lingen and L.A.A. Kollée. Epidemiology of neonatal group B streptococcal disease in the Netherlands before and after introduction of guidelines for prevention. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed* 2007, 92, F271-F276.
7. B. Van Meensel, M. Hanssens, B. Spitz, J. Frans, J. Verhaegen. Screening naar en profylaxe van groep B-streptokokken bij zwangeren. *Tijdschr. Voor Geneeskunde*, 63 (8) 348-356.
8. J.D. Perry, M. Oliver, A. Nicholson, J. Wricht, F.K. Gould. Evaluation of a new chromogenic agar medium for isolation and identification of group B streptococci. *Appl. Microbiology* 2006, 43, 615-18.
9. G. Bou, M. Figueira, D. Canle, M. Cartelle, J.M. Eiros, R. Villanueva. Evaluation of group B streptococcus differential agar for detection and isolation of streptococcus agalactiae. *Clin. Microb. Infect. Dis.* 2005, 11 (8), 670-681.
10. F. Grandjean, P. Goffinet, N. Hougardy. Detection of colonization by streptococcus agalactiae: prospective study comparing real-time gene amplification with a new chromogenic medium strepto B ID. *Path. Biol.* 2007, 1-5.
11. Wilfred P. Dela Cruz, Joann Y. Richardson, Judith M. Broestler, Jennifer A. Thornton, Patrick J. Danaher. Rapid determination of macrolide and lincosamide resistance in group B streptococcus isolated from vaginal-rectal swabs. *Infect. Dis. Obst. Gynec.* 2007, 1-6.

### 2.3. Cultuur M/7758 *Staphylococcus aureus*

#### Samenvatting van de bekomen resultaten

- De verstuurde *S. aureus* stam was gevoelig voor oxacilline en resistent tegen penicilline, macroliden, lincosamiden en chinolones.
- Identificatie
  - 182/183 laboratoria hebben de *S. aureus* correct geïdentificeerd. Eén labo heeft de stalen *S. aureus* en *S. agalactiae* omgewisseld.
- Globale resultaten van het antibiogram
  - *β-lactam antibiotica*: alle laboratoria hebben correct de resistentie tegen penicilline en de gevoeligheid voor oxacilline geantwoord.
  - *Macroliden*: 179/180 labos hebben correct de resistentie tegen de macroliden geantwoord. Eén labo antwoordde de stam foutief als gevoelig voor erythromycine.
  - *Lincosamiden*: 74% van de labos hebben correct de resistentie (I+R) tegen clindamycine geantwoord en 26% hebben de stam foutief als gevoelig geantwoord.
  - *Chinolones*: alle laboratoria hebben correct de resistentie tegen de chinolones geantwoord.

#### Bespreking van de bekomen resultaten en commentaar over de stam M/7758

Stam M/7758 is een *S. aureus* stam met een resistentieprofiel dat men gewoonlijk terugvindt bij MRSA. Het belang van deze stam was dus vooral om de aandacht van de laboratoria te vestigen op het mogelijk multiresistente karakter van een MSSA en niet zozeer om de gevoeligheidsbepaling voor oxacilline bij een *S. aureus* te evalueren.

De bepaling van de gevoeligheid voor oxacilline stelde geen enkel probleem. Verbazend genoeg gebruiken 7 laboratoria nog methicilline schijfjes, iets dat niet meer aanbevolen kan worden. Het sterk verspreide gebruik van cefoxitine, waarvan de grotere gevoeligheid in de bepaling van resistentie tegen de penicillinase-resistente penicillines gekend is, is conform met de aanbevelingen van de CLSI. Dit antibioticum bevindt zich in de galerijen van de automaten: sinds juli 2005 voor de Phoenix-gebruikers (Becton Dickinson) en sinds september 2006 voor de Vitek-gebruikers (bioMérieux). Het referentielaboratorium voor MRSA heeft ons bevestigd dat het, voor diegenen die de keuze hebben, nutteloos is om naast cefoxitine ook oxacilline te testen. Vooraleer we de bespreking van de  $\beta$ -lactam antibiotica afsluiten, is het belangrijk om te herhalen dat de bodems die gebruikt worden om MRSA op te sporen op monsters afgenomen met de wissers die voor screening gebruikt worden, niet de methode vormen om de resistentie tegen oxacilline bij *S. aureus* te bepalen en hiervoor niet mogen gebruikt worden.

Voor wat de MLS betreft, hebben 25% (46/179) van de laboratoria die de resistentie tegen de macroliden correct gedetecteerd hebben, de gevoeligheid voor clindamycine niet gewijzigd. Dit illustreert duidelijk het gebrek aan duidelijke aanbevelingen hieromtrent. Zoals Dr. Olivier Denis van het Belgische referentiecentrum voor de MRSA preciseert, zijn de aanbevelingen van de verschillende organismen die richtlijnen over antibiogrammen verstrekken (CLSI, CA-SFM) niet zo categoriek om voor stammen die een induceerbaar MLSb fenotype vertonen, clindamycine als «R» te antwoorden. De Amerikanen raden aan om clindamycine als R te antwoorden maar er een commentaar aan toe te voegen dat aangeeft dat in sommige klinische omstandigheden clindamycine gebruikt kan worden. De Fransen raden niet aan om systematisch te corrigeren.

De microbioloog moet dus zeker de clinicus waarschuwen over het risico van therapiefalen in bepaalde klinische situaties met een verhoogd inoculum, in welbepaalde klinische sites voor bemonstering (o.a. bij mediastinitis, respiratoire infecties, ...). Ter herinnering, in 2005 waren 22% van de MSSA stammen, die geëvalueerd werden in het kader van de nationale surveillance MRSA studie, resistent tegen erythromycine en 5% tegen clindamycine; de resistentiemechanismen van deze stammen waren van het type *ermC*, *ermA* of beide ([http://www.iph.fgov.be/epidemiologie/epinl/plabnl/plabannl/05\\_mrsn\\_r.pdf](http://www.iph.fgov.be/epidemiologie/epinl/plabnl/plabannl/05_mrsn_r.pdf)). Nog volgens dezelfde studie, waren in 2005 meer dan 99% van de stammen gevoelig aan de meerderheid van de geteste antibiotica met uitzondering van de chinolones (14% resistente stammen) en de MLS (cfr hoger). In deze enquête werd de resistentie tegen de chinolones gemakkelijk aangetoond. We herhalen desalniettemin dat de CLSI het gebruik van norfloxacin enkel aanraadt voor stammen die geïsoleerd worden uit urine, en het gebruik van oxolinezuur niet aanraadt om de gevoeligheid voor de chinolones te bepalen.

Tenslotte, hoewel het slechts om geringe percentages gaat en zelfs als deze antibiotica niet getest werden in de huidige enquête, is het belangrijk om op te merken dat de MSSA in 2005 bijna even resistent waren als de MRSA tegen mupirocine (1.9% vs 2.7%) en tegen fusidinezuur in 2003 (1% vs 1.4), een gegeven dat zou kunnen getuigen van een inadequaat gebruik van crèmes op basis van deze antibiotica voor de lokale behandeling van wonden.

Y. De Gheldre, CHIREC - Institut Médical Edith Cavell, Brussel

## 2.2. Cultuur M/7759 *Klebsiella pneumoniae*

De stam die werd rondgestuurd was een *Klebsiella pneumoniae* met een plasmidair ampC (DHA1) én een SHV 11  $\beta$ -lactamase.

### Inleiding:

Als één van de weinige gramnegatieve bacteriën dragen *Klebsiella spp.* chromosomaal geen ampC  $\beta$ -lactamases. Deze stammen kunnen zulke  $\beta$ -lactamases echter wel verwerven via transductie van een plasmide dat een ampC gen bevat. AmpC  $\beta$ -lactamases behoren tot de klasse C (cefalosporinases) in de Ambler classificatie of groep 1 in de Bush-Jacoby-Medeiros classificatie (1-2).

De enzymen worden niet routinematig opgespoord aangezien ze meestal gerepresseerd voorkomen of in irrelevante hoeveelheden worden geproduceerd. Plasmidair gemedieerde ampC kan echter worden hypergeproduceerd en tot klinisch falen leiden indien het niet onderkend wordt. Er is sprake van een inoculum-effect t.o.v. 3<sup>e</sup> generatie cefalosporines (3). Verder komen ze ook geregeld voor in associatie met andere resistentiemechanismen zoals bvb. quinoloneresistentie via qnrB genen (4). De aanwezigheid van hypergeproduceerde ampC  $\beta$ -lactamases kan worden vermoed op basis van enkele fenotypische eigenschappen in een dubbele disk synergietest (DDST) wanneer die wordt aangevuld met een schijfje cefoxitine (5,6).

De verstuurde stam is o.a. drager van een plasmide waarop het DHA-1 ampC  $\beta$ -lactamase zich bevindt. Dit enzym is voor het eerst ontdekt in het Dharan hospitaal in Saoedi-Arabië, vandaar de naam (7). Er bestaan varianten DHA-2 en DHA-3 (8,9).

### Fenotype:

In een DDST (volgens Jarlier, aangevuld met cefoxitine, cefotaxime, cefepime, en aztreonam, Figuur 1) vertoont de stam een speciaal patroon voor ceftazidime, cefotaxime, ceftriaxone, en voor aztreonam (5). Voor deze antibiotica is er, indien deze schijfjes op aangepaste afstand van een amoxicilline-clavulaanzuur (AMC) schijfje liggen, inductie merkbaar onder vorm van een afplatting van de inhibitiezone. Daarenboven is er ook telkens een doorgroei van kolonies in de gevoelige zone. Dit fenomeen van koloniedoorgroei is belangrijk voor de aflezing en kan wijzen op een plasmidair resistentiemechanisme (10). Wat betreft cefepime zijn er geen doorgroei kolonies aanwezig maar is er opmerkelijk een kleine fantoomzone (champagnekurk) in de buurt van AMC. (Tabel 1, Figuur 1). Resistentie tegen cefoxitine is hoog. Wanneer er cefoxitineresistentie wordt vastgesteld, zijn er drie mogelijkheden: een ampC  $\beta$ -lactamase, een porineverlies, of een metallo- $\beta$ -lactamase (11). Uiteraard zijn combinaties ook mogelijk. Bijna alle ampC  $\beta$ -lactamases zijn resistent tegen cefoxitine, al bestaan er enkele uitzonderingen (bvb. ACC-1).

Dit fenotype met cefoxitineresistentie, doorgroeiende kolonies, en inductiebeeld, is zeer suggestief voor een induceerbaar ampC  $\beta$ -lactamase zoals DHA-1 (12-13).

### Detectie:

De confirmatie van de aanwezigheid van een ampC  $\beta$ -lactamase is geen routine en wordt eerder in gespecialiseerde laboratoria uitgevoerd. Er zijn verschillende tests beschreven die vaak heel ingewikkeld zijn: de drie-dimensionale test, multiplex PCR, boorzuurgebaseerde microdilutie (14-16). Nochtans hoeft dit niet zo moeilijk te zijn. Er is een eenvoudige test, de ampC disk test, beschreven (17). Op een met tris-EDTA geïmpregneerd blanco schijfje wordt een kolonie van de te onderzoeken stam aangebracht en dit geheel wordt naast een cefoxitineschijfje geplaatst op een Müller-Hinton bodem die met een cefoxitine-gevoelige *E. coli* beënt is. Door de EDTA wordt de wand van de onderzochte kiem permeabel waardoor het ampC  $\beta$ -lactamase uit de te onderzoeken stam kan diffunderen in de omgeving. Dit laat de *E. coli* toe te groeien in

aanwezigheid van cefoxitine. Visueel verkrijgt men een afplatting tot indeuking van de gevoeligheidszone voor cefoxitine van de onderliggende *E. coli* bij een ampC positieve stam (Figuur 2). Ook eenvoudige testen op basis van ampC-inhibitoren zoals boorzuur en cloxacilline zijn mogelijk (15). Tot nu toe is er geen gouden standaard voorgesteld. Om te screenen naar ampCs kan het nuttig zijn een cefoxitineschijfje toe te voegen aan de DDST voor de confirmatie van ESBLs (6).

Met moleculaire methodes is vastgesteld dat bovenvermelde stam een DHA-1 ampC  $\beta$ -lactamase bezit en een SHV-11  $\beta$ -lactamase dat niet tot de ESBLs behoort (<http://www.lahey.org/studies>). Deze combinatie is zeer zeldzaam en is voordien enkel in Taiwan beschreven (18).

Anderzijds lijken ampC  $\beta$ -lactamases aan een opmars bezig in *Klebsiella spp* (19-20).

#### Klinische betekenis:

Gevoeligheidsbepalingen worden steeds moeilijker te interpreteren nu er meer en meer data beschikbaar zijn over resistentie mechanismen. Niet alle mechanismen kunnen in de routine steeds worden opgespoord en daarom suggereren sommige auteurs dan ook om aan de hand van in vitro gegevens voor bepaalde antibiotica gevoeligheden voor andere antibiotica te voorspellen of te interpreteren (18). Voor ESBL producerende Enterobacteriaceae (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus*) is er ondertussen wel voldoende evidentie die aantoont dat de 3e en 4e generatie cefalosporines beter niet gebruikt worden ondanks -soms- in vitro gevoeligheid. Voor ampC producerende *K. pneumoniae* zijn de gegevens schaarser en richtlijnen minder duidelijk of ontbrekend. Wanneer CLSI guidelines worden gevolgd (86% van de deelnemende laboratoria) moet de stam M7759 wel verder onderzocht worden op de aanwezigheid van ESBL (ceftazidime  $\varnothing \leq 22$ mm en/of MIC  $\geq 2$ ). De aangeraden confirmatie testen (E-test, DDST) zullen echter negatief uitvallen en dan wordt er geen aanpassing van de categorieën gesuggereerd. Meer en meer wordt nochtans aangeraden om bij ernstige infecties deze organismen op dezelfde manier te behandelen als ESBL producerende *K. pneumoniae*. (2, 22). De definitie van de term «ESBL» is trouwens voortdurend in beweging en door onder andere Livermore wordt geopperd om ook de plasmidaire ampC enzymen te beschouwen als ESBLs (23). In een recent beschreven epidemie waaruit deze stam afkomstig is werden verhoogde gemiddelde MIC's (gaande tot volledige resistentie) opgemeten voor de meeste cefalosporines (Tabel 1) (5).

Het mag dus duidelijk zijn dat deze kiemen niet zomaar als gevoelig voor de 3e (en 4e) generatie cefalosporines kunnen worden doorgegeven en dat het laboratorium de clinicus beter verwittigt van mogelijk therapiefalen met deze antibiotica. Misschien zal de MIC bepaling in combinatie met lagere breakpoints in de toekomst de laboratoria een beter houvast geven om een eenvoudiger beleid te voeren. De overgang naar EUCAST breakpoints kan hier dan ook een belangrijke mijlpaal zijn.

#### Resultaten:

Het rondsturen van deze stam ging gepaard met behoorlijk wat moeilijkheden. De identificatie leverde geen problemen op (98% correcte identificatie) maar de gevoeligheidsbepaling was minder uniform. Niet alleen was dit geen klassiek resistentie patroon voor een *K. pneumoniae* maar bovendien bleek dat bij een aantal deelnemers de stam door de lyofilisatie waarschijnlijk het plasmide was kwijtgespeeld. Echter wanneer de resultaten (doorgegeven MICs of diameters) grondig geanalyseerd worden, toont dit aan dat er slechts bij 13 van de 127 (10%) evalueerbare antwoorden sprake kan zijn van een volledig gevoelige *K. pneumoniae*.

Wanneer de resultaten van ceftazidime als type antibioticum voor de 3e generatie cefalosporines worden nagekeken blijkt dat 110/177 labo's de stam gevoelig rapporteren. Voor de labo's die de ruwe data opgegeven hebben blijkt dat 85 van de 127 laboratoria

de stam gevoelig vinden en dat (slechts) 22 laboratoria dit resultaat aanpassen naar intermediair of resistent.  
In ongeveer de 60% van de laboratoria zal deze kiem dus als gevoelig voor de 3e (en 4<sup>e</sup>) generatie cefalosporines worden doorgegeven zonder enig verder commentaar!

Timothy Vanwysberghe, Hans De Beenhouwer  
Onze-Lieve-Vrouw Ziekenhuis, Aalst

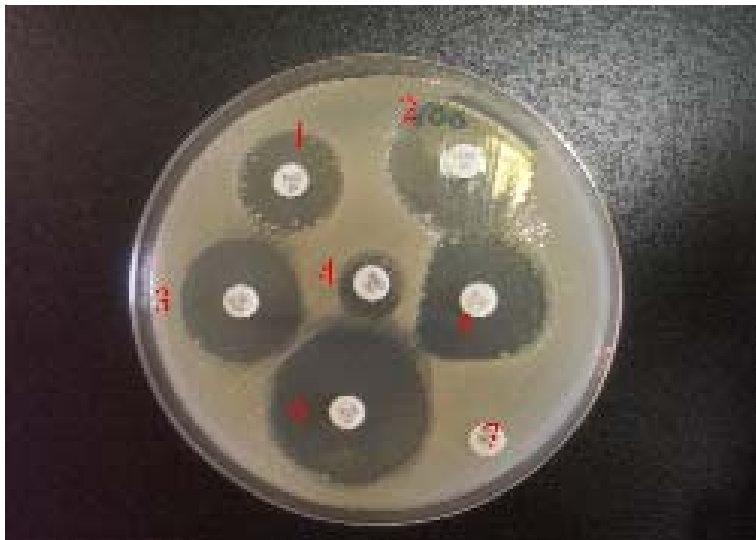
Anne De Diste, Laboratoire de la Porte de Hal

Yves De Gheldre, CHIREC

**Tabel 1.** Spreiding en mediaan van de MIC voor 45 isolaten van *K. pneumoniae* (AmpC) tov amoxicilline-clavulaanzuur (AMC), aztreonam (ATM), ceftazidime (CAZ), ceftriaxone (CRO), cefepime (FEP), ciproxine (CIP), en piperacilline-tazobactam (TZP).(ref 5)

n=45	AMC	ATM	CAZ	CRO	FEP	TZP	CIP
MIC spreiding (µg/ml)	16 - >16	≤1 - >16	4 - >16	≤2 - 4	≤1 - 16	8 - >64	>2
MIC mediaan	>16	2	8	2	2	64	>2

**Figuur 1:** Fenotype *K. pneumoniae* M/7759 in DDST



**Figuur 1.** Fenotype van stam M7759 (1: ceftazidime, 2: ceftriaxone, 3: aztreonam, 4: amoxicillin-clavulaanzuur, 5: cefotaxime, 6: cefepime, en 7: cefoxitin).

**Figuur 2:** AmpC disk test



**Figuur 2.** AmpC disk test: blanco schijfje geïmpregneerd met EDTA naast cefoxitin (FOX). Indeuking wijst op een ampC β-lactamase (zie tekst voor beschrijving). (1: *K. pneumoniae* ampC Pos stam; 2: negatieve controle)



## REFERENCES

1. Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-determined AmpC-type  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(1): 1-11.
2. [Walther-Rasmussen J](#), [Høiby N](#). Plasmid-borne AmpC beta-lactamases. *Can J Microbiol*. 2002; 48(6): 479-93.
3. Pai H, Kang CI, Byeon JH, Lee KD, Park WB, Kim HB, *et al*. Epidemiology and clinical features of bloodstream infections caused by AmpC-type-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(10): 3720-8.
4. [Pai H](#), [Seo MR](#), [Choi TY](#). Association of QnrB determinants and production of extended-spectrum beta-lactamases or plasmid-mediated AmpC beta-lactamases in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(1): 366-8.
5. Vanwynsberghe T, Verhamme K, Raymaekers M, Cartuyvels R, Boel A, De Beenhouwer H. Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* strain harbouring an AmpC (DHA-1) and a blaSHV-11 in a Belgian hospital, August-December 2006. *Euro Surveill*. 2007 Feb 1; 12(2): E070201.3.
6. Doi Y, Paterson DL. Detection of plasmid-mediated class C  $\beta$ -lactamases. *Int J Infect Dis* 2007; 11(3): 191-7.
7. Gaillot O, Clement C, Simonet M, Philippon A. Novel transferable  $\beta$ -lactam resistance with cephalosporinase characteristics in *Salmonella enteritidis*. *J Antimicrob Chemother* 1997; 39: 85-7.
8. [Fortineau N](#), [Poirel L](#), [Nordmann P](#). Plasmid-mediated and inducible cephalosporinase DHA-2 from *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*. 2001; 47(2): 207-10.
9. [Wu LT](#), [Hung SW](#), [Chuang YC](#), [Chen HE](#), [Jones RN](#), [Yu WL](#). Identification of a novel cephalosporinase (DHA-3) in *Klebsiella pneumoniae* isolated in Taiwan. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11(11): 893-7.
10. Alvarez M, Tran JH, Chow N, Jacoby GA. Epidemiology of conjugative plasmid-mediated AmpC beta-Lactamases in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(2): 533-7.
11. Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-determined AmpC-type  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(1): 1-11.
12. Lee K, Hong SG, Park YJ, Lee HS, Song W, Jeong J, *et al*. Evaluation of phenotypic screening methods for detecting plasmid-mediated AmpC beta-lactamases-producing isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 53(4): 319-23.
13. [Mirelis B](#), Rivera A, [Miró E](#), [Mesa RJ](#), [Navarro F](#), [Coll P](#). A simple phenotypic method for differentiation between acquired and chromosomal AmpC beta-lactamases in *Escherichia coli*. *Enferm Infec Microbiol Clin*. 2006; 24(6): 370-2.
14. Thomson KS, Sanders CC. Detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae*: comparison of the double disk and three-dimensional tests. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 1877-82.

15. Song W, Jeong SH, Kim JS, *et al.* Use of boronic acid disk methods to detect the combined expression of plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamases and extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in clinical isolates of *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp., and *Proteus mirabilis*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006; 57(3): 315-8.
16. Perez-Perez FJ, Hanson ND. Detection of plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2153-62.
17. Black JA, Moland ES, Thomson KS. AmpC Disk Test for Detection of Plasmid-Mediated AmpC  $\beta$ -Lactamases in Enterobacteriaceae Lacking Chromosomal AmpC  $\beta$ -Lactamases. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 3110-3.
18. Livermore, D. M., Winstanley, T. G. & Shannon, K. P. (2001). Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 47, Suppl. 1, 87-102.
19. Song W, Kim JS, Kim HS, Yong D, Jeong SH, Park MJ, *et al.* Increasing trend in the prevalence of plasmid-mediated AmpC beta-lactamases in Enterobacteriaceae lacking chromosomal AmpC gene at a Korean university hospital from 2002 to 2004. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006; 55: 219-24.
20. Moland ES, Hanson ND, Black JA, Hossain A, Song W, Thomson KS. Prevalence of newer beta-Lactamases in gram-negative clinical isolates collected in the United States from 2001 to 2002. *J Clin Microbiol* 2006; 44(9): 3318-24.
21. Livermore D.M, Winstanley TG, Shannon KP. Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47(S1): 87-102.
22. Owens CO Jr, Rice L. Hospital-based strategies of combating resistance. *Clin Infect Dis* 2006; 42 : S173-81.
23. Livermore D. M. Defining an extended-spectrum  $\beta$ -lactamase *Clinical Microbiology and Infection* 2008 ;14 (s1), 3-10.

### III. RESULTATEN VAN DE IDENTIFICATIES (N = 184)

De correcte of aanvaardbare resultaten zijn onderlijnd

#### 3.1. Cultuur M/6151 *Listeria monocytogenes* (lumbaalvocht)

<u><i>Listeria monocytogenes</i></u>	169 (92.3%)
<i>Listeria monocytogenes</i> serotype 1	2 (1.1%)
<i>Listeria species</i>	8
<i>Listeria innocua</i>	1
<i>Corynebacterium species</i>	1
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1
Naar gespecialiseerd laboratorium	1

#### 3.2. Cultuur M/7598 *Streptococcus agalactiae* (sputum)

<u><i>Streptococcus agalactiae</i></u>	145 (79.2%)
<u><i>Streptococcus agalactiae</i> (groep B)</u>	23 (12.6%)
<u><math>\beta</math>-hemolytische <i>Streptococcus</i> van groep B</u>	7 (3.8%)
<u><i>Streptococcus</i> van groep B</u>	2 (1.1%)
Bacitracine gevoelige <i>Streptococcus</i> , niet <i>S. pyogenes</i> (verdere identificatie in onderaanneming)	1
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> (groep B)	1
<i>Streptococcus dysgalactiae ssp. equisimilis</i>	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1
Afwezigheid van pathogenen ( <i>Streptococcus agalactiae</i> )	1
Afwezigheid van pathogenen	1

#### 3.3. Cultuur M/7758 *Staphylococcus aureus* (etter)

<u><i>Staphylococcus aureus</i></u>	167 (91.2%)
<u><i>Staphylococcus aureus</i> (induceerbare <math>MLS_B</math> resistentie)</u>	9 (4.9%)
<u><i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA negatief)</u>	3 (1.6%)
<u><i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)</u>	1 (0.5%)
<u><i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA ; ind. <math>MLS_B</math> resistentie)</u>	1 (0.5%)
<u><i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA ; <math>\beta</math>-lactamase)</u>	1 (0.5%)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1

#### 3.4. Cultuur M/7759 *Klebsiella pneumoniae* (urine)

<u><i>Klebsiella pneumoniae</i></u>	159 (86.9%)
<u><i>Klebsiella pneumoniae ssp. pneumoniae</i></u>	20 (10.9%)
<i>Klebsiella terrigena</i>	2
<i>Raoultella (Klebsiella) terrigena</i>	1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1

Voor *Klebsiella pneumoniae* voegden een aantal laboratoria hier volgende opmerkingen aan toe:

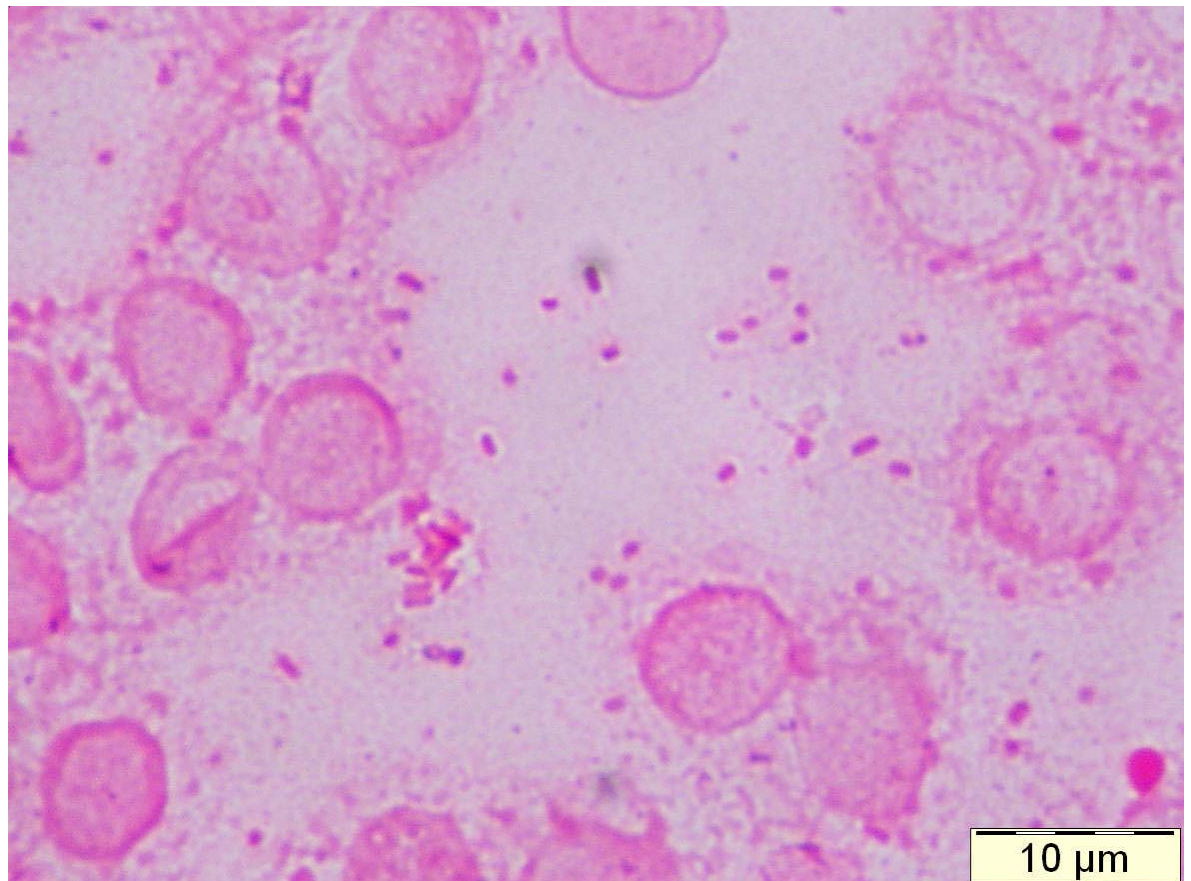
- ESBL positief	9
- ESBL negatief	6
- induceerbare cefalosporinase	1
- 2 subtypes	1
- 2 subtypes, waarvan 1 ESBL positief	2

### 3.2. Gramkleuring M/8049 Gram-negatieve staven (*E. coli*) (Gramkleuring)

<u>Gram negatieve bacillen</u>	145 (79.2%)
Gram negatieve bacillen + Gram negatieve kokken	3
Gram negatieve bacillen + Gram positieve bacillen	1
Gram negatieve bacillen + Gram positieve kokken	1
Gram variabele bacillen	10
Gram negatieve kokken	3
Gram positieve bacillen	8
Gram positieve bacillen + Gram positieve kokken	1
Gram positieve kokken	9
Afwezigheid van kiemen	1
Naar gespecialiseerd laboratorium	1

Het laboratorium dat Gram negatieve en Gram positieve bacillen (en ook coccobacillen) vaststelde, zou in routine de kleuring manueel herhalen om zo de ontcleuringstap in te korten.

Het lijkt ons aangewezen dat de laboratoria die enkel Gram positieve kiemen vaststelden en het laboratorium dat geen kiemen vaststelde, hun Gramkleuring zouden analyseren. Desgewenst kunnen zij nieuwe exemplaren van staal M/8049 aanvragen aan het WIV.



## 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 de methode. Het type antibiogram werd opgesteld op basis van resultaten van de verschillende experten.

### 4.1. Cultuur M/7758 (*Staphylococcus aureus*)

Aantal deelnemers = 183

Niet alle deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor alle antibiotica. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor meer dan één chinolone. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid met meer dan 1 methode; deze resultaten kwamen in alle gevallen overeen.

Tabel 4.1.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/7758 (*Staphylococcus aureus*)

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	I	R
Penicilline	R	176	-	-	176
Oxacilline	S	154	154	-	-
Methicilline	S	10	10	-	-
Cefoxitine	S	128	128	-	-
Erythromycine	R	178	1	-	177
Clarithromycine <sup>1</sup>	R	2	-	-	2
Clindamycine	R	180	46	13	121
Chinolones					
Ciprofloxacine	R	99	-	-	99
Levofloxacine	R	43	-	-	43
Moxifloxacine	R	17	-	-	17
Norfloxacine	R	15	-	1	14
Ofloxacine	R	17	-	-	17
Oxolinezuur	R	1	-	-	1
«Chinolone» <sup>2</sup>	R	13	-	-	13

<sup>1</sup> Een aantal laboratoria bepaalde clarithromycine in plaats van erythromycine.

<sup>2</sup> Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

Er dienen enkele kanttekeningen bij deze resultaten geplaatst te worden.

Eén laboratorium antwoordde het resultaat van oxacilline en vermeldde dat de stam zou doorgestuurd worden voor de bepaling van de gevoeligheid van methicilline en cefoxitine.

De toestellen Vitek 2 en Vitek 2 compact geven voor de cefoxitine-screen test het antwoord «negatief»; dit mag beschouwd worden als «gevoelig» (cfr infra).

Een groot aantal laboratoria vermelden dat de D-zone test positief is, het bijgevolg een  $MLS_B$ -positieve stam betreft en dat de stam dus resistent is tegen clindamycine; één laboratorium vermeldt dat clindamycine evenwel bij sommige patiënten nog actief zou kunnen zijn.

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 met de papieren schijfjes en Neosensitabs schijfjes 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 papieren schijfjes volgens CLSI voor staal M/7758 (*Staphylococcus aureus*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g}$ /schijfje; voor penicilline: U/schijfje of $\mu\text{g}$ /schijfje)	Mediane diameter (mm)	Grenswaarden diameter (mm)	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline <sup>1</sup>	(29)						
	8	6	15	12-17	-	-	29
	18	10	15,5	6 - 20	-	-	8
Oxacilline	20 (23)	1	19	13 - 24	23	-	-
Methicilline	1 (1)	5	14	14 - 14	1	-	-
Cefoxitine	40 (42)	30	27	16 - 36	42	-	-
Erythromycine <sup>2</sup>	30 (34)	15	6	6 - 10	-	-	34
Clindamycine	38 (41)	2	( <sup>3</sup> )	( <sup>3</sup> )	4	1	36
Chinolones							
Ciprofloxacin	18 (18)	5	6	6 - 10	-	-	18
Levofloxacin	8 (8)	5	6	6 - 8	-	-	8
Moxifloxacin	2 (2)	5	11,5	11 - 12	-	-	2
Norfloxacin	2 (3)	5 en $10^4$	( <sup>4</sup> )	( <sup>4</sup> )	-	-	3
Ofloxacin	5 (5)	5	6	6 - 7	-	-	5
«Chinolone»	1 (3)	5	6	6 - 6	-	-	3

<sup>1</sup> Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt voor penicilline: 10 units/schijfje en 6  $\mu\text{g}$ /schijfje.

<sup>2</sup> Tevens antwoordde één laboratorium:  $\leq 6$  mm.

<sup>3</sup> De meeste laboratoria vermeldden de diameter doch vermeldden eveneens dat er een afplatting (positieve D-zone test) optrad; het leek ons derhalve weinig aangewezen mediaan, minimum en maximum van de diameters te berekenen.

<sup>4</sup> Eén laboratorium vermeldde een lading van 5  $\mu\text{g}$  en een ander een lading van 10  $\mu\text{g}$ . Een berekening van de diameters is derhalve onmogelijk.



Voor de Neosensitabs schijfjes zijn er nu 2 ladingen beschikbaar: de «Neosensitabs-ladingen» («old», met de ROSCO richtlijnen) en de «CLSI-ladingen» («new», waarbij de CLSI richtlijnen gevolgd dienen te worden). U vindt de resultaten in tabellen 4.1.3. a en b. De resultaten van de laboratoria die de Sirscan gebruikt hebben om de diameters van deze schijfjes af te lezen vindt u in tabellen 4.1.9 a en b.

Tabel 4.1.3.a. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (Neosensitabs ladingen) voor staal M/7758 (*Staphylococcus aureus*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g/schijfje}$ )	Mediane diameter (mm)	Grenswaarden diameter (mm)	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline	37 (44)	5	15	9 - 17	-	-	44
Oxacilline	33 (42)	1	22	15 - 24	42	-	-
Methicilline	4 (6)	29	32	32 - 33	6	-	-
Cefoxitine	28 (35)	60	33	28 - 40	35	-	-
Erythromycine <sup>1,2</sup>	35 (44)	78	10	9 - 14	-	-	44
Clarithromycine	1 (2)	30	11	11 - 11	-	-	2
Clindamycine <sup>1</sup>	40 (46)	25	( <sup>3</sup> )	( <sup>3</sup> )	11	2	33
Chinolones							
Ciprofloxacin	17 (19)	10	9	9 - 14	-	-	19
Levofloxacin	5 (9)	5	9	9 - 11	-	-	9
Moxifloxacin	1 (1)	5	14	14 - 14	-	-	1
Norfloxacin	2 (2)	10	9,5	9 - 10	-	1	1
Ofloxacin <sup>4</sup>	7 (9)	10	9	9 - 10	-	-	9
Oxolinezuur	1 (1)	10	10	10 - 10	-	-	1
«Chinolone»	2 (2)	10	10	10 - 10	-	-	2

<sup>1</sup> Bovendien vermeldden twee laboratoria, die de Vitek gebruiken voor de bepaling van de gevoeligheid, de erythromycine- en clindamycineschijfjes gebruikt te hebben om de aanwezigheid van een D-zone te bepalen; deze test was positief in dit geval en de stam werd dus beschouwd als resistent tegen clindamycine.

<sup>2</sup> Tevens antwoordde één laboratorium:  $\leq 9$  mm.

<sup>3</sup> De meeste laboratoria vermeldden de diameter doch vermeldden eveneens dat er een afplatting (positieve D-zone test) optrad; het leek ons derhalve weinig aangewezen mediaan, minimum en maximum van de diameters te berekenen.

<sup>4</sup> Tevens antwoordde één laboratorium:  $\leq 9$  mm.

Tabel 4.1.3.b. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (CLSI ladingen) voor staal M/7758 (*Staphylococcus aureus*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g/schijfje}$ ; voor penicilline: U/schijfje)	Mediane diameter (mm)	Grenswaarden diameter (mm)	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline	4 (4)	10	15,5	15 - 18	-	-	4
Oxacilline	4 (4)	1	20	18 - 23	4	-	-
Cefoxitine	4 (5)	30	25	23 - 33	5	-	-
Erythromycine	6 (6)	15	9	9 - 10	-	-	6
Clindamycine	6 (6)	2	( <sup>1</sup> )	( <sup>1</sup> )	1	1	4
Chinolones							
Ciprofloxacin	2 (2)	5	9	9 - 9	-	-	2
Levofloxacin	1 (1)	5	13	13 - 13	-	-	1
Norfloxacin	1 (1)	10	10	10 - 10	-	-	1
Ofloxacin	1 (1)	5	9	9 - 9	-	-	1

<sup>1</sup> De meeste laboratoria vermeldden de diameter doch vermeldden eveneens dat er een afplatting (positieve D-zone test) optrad; het leek ons derhalve weinig aangewezen mediaan, minimum en maximum van de diameters te berekenen.

Slechts 4 laboratoria hebben de E-test gebruikt: één laboratorium voor alle antibiotica en 3 andere enkel voor oxacilline. Deze resultaten worden weergegeven in tabel 4.1.4.

Tabel 4.1.4. Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor staal M/7758 (*Staphylococcus aureus*)

Antibioticum	Resultaat			MIC-waarde ( $\mu\text{g/ml}$ )
	S	I	R	
Penicilline	-	-	1	0.50
Oxacilline	4	-	-	0.38 0.50 0.75 en 1.5
Cefoxitine	1	-	-	3
Erythromycine	-	-	1	>256
Clindamycine	-	-	1	(0.125) (Resultaat R op basis van positieve D-zone test)
Ofloxacin	-	-	1	>32

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/7758 (*Staphylococcus aureus*)

Antibioticum	Vitek 2						Vitek 2 compact					
	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)		
	S	I	R			S	I	R				
Penicilline	-	-	60	$\geq 0.5$	55 (60)	-	-	21	$\geq 0.5$	18 (21)		
Oxacilline	51	-	-	0.5	42 (51)	21	-	-	0.5	14 (21)		
Cefoxitine	30	-	-	Screen <sup>1</sup>	(30)	6	-	-	Screen <sup>1</sup>	(6)		
Erythromycine	-	-	59	$\geq 8$	54 (59)	-	-	21	$\geq 8$	18 (21)		
Clindamycine	19	8	27	$(\leq 0.25)^2$	49 (54)	6	1	13	$(\leq 0.25)^2$	17 (20)		
Chinolones												
Ciprofloxacin	-	-	35	$\geq 8$	33 (35)	-	-	13	$\geq 8$	12 (13)		
Levofloxacin	-	-	16	$\geq 8$	16 (16)	-	-	5	$\geq 8$	4 (5)		
Moxifloxacin	-	-	10	4	7 (10)	-	-	3	4	2 (3)		
Norfloxacin	-	-	2	4 en $\geq 16$	1 en 1 (2)	-	-	2	$\geq 16$	2 (2)		
Ofloxacin	-	-	-	-	-	-	-	1	$\geq 8$	1 (1)		
«Chinolone»	-	-	6	$\geq 8$	6 (6)	-	-	2	$\geq 8$	2 (2)		

<sup>1</sup> De Vitek toestellen laten een screeningstest toe van cefoxitine; als het resultaat «negatief» is, kan de stam beschouwd worden als gevoelig voor cefoxitine.

<sup>2</sup> Een (groot) aantal laboratoria hebben de MIC-waarde  $\leq 0.25$  gerapporteerd, wat een ruw resultaat «S» oplevert; de meeste onder hen hebben dit resultaat echter aangepast naar een finaal resultaat «R» op basis van de tegelijkertijd uitgevoerde D-zone test.

In de meeste gevallen is de «meest vermelde MIC waarde» de enige die vermeld werd door de deelnemers; een aantal laboratoria vermeldden immers de gevonden MIC waarde niet. Voor oxacilline rapporteerden enkele laboratoria andere MIC-waarden: met Vitek 2 vond 1 laboratorium een MIC van 1 mg/l en 2 laboratoria een MIC  $\leq 0.25$  mg/l; met Vitek 2 compact vonden 4 laboratoria een MIC  $\leq 0.25$  mg/l.



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

Tabel 4.1.6. Resultaten bekomen met de ATB methode voor M/7758 (*Staphylococcus aureus*)

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Penicilline	-	-	8
Oxacilline	6	-	-
Erythromycine	-	-	7
Clindamycine	2	-	5
Chinolones			
Levofloxacin	-	-	5
Norfloxacin	-	-	5

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.1.7.

Tabel 4.1.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/7758 (*Staphylococcus aureus*)

Antibioticum	Resultaat			Meest vermelde MIC waarde	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Penicilline	-	-	8	> 0.25	7 (8)
Oxacilline	7	-	-	0.5	6 (7)
Cefoxitine	8	-	-	4	5 (8)
Erythromycine	-	-	8	> 4	7 (8)
Clindamycine	-	2	6	( $\leq 0.5$ ) <sup>1</sup>	7 (8)
Chinolones					
Ciprofloxacin	-	-	8	> 4	8 (8)

<sup>1</sup> Een aantal laboratoria hebben de MIC-waarde  $\leq 0.5$  gerapporteerd, wat een ruw resultaat «S» oplevert; de meeste onder hen hebben dit resultaat echter aangepast naar een finaal resultaat «R» op basis van de tegelijkertijd uitgevoerde D-zone test.

In de meeste gevallen is de 'meest vermelde MIC waarde' de enige die vermeld werd door de deelnemers; een aantal laboratoria vermeldden immers de gevonden MIC waarde niet. In enkele gevallen werden ook andere waarden gerapporteerd:

- voor penicilline vond 1 laboratorium een MIC van > 0.2 mg/l
- voor oxacilline vond 1 laboratorium een MIC  $\leq 0.25$  mg/l
- voor cefoxitine vonden 3 laboratoria een MIC  $\leq 2$  mg/l
- voor erythromycine vond 1 laboratorium een MIC  $\geq 8$  mg/l

De resultaten bekomen met de toestellen Osiris en Sirscan worden weergegeven in tabellen 4.1.8. en 4.1.9 a en b. Gezien alle deelnemers die deze afleestoestellen (Osiris voor de papieren schijfjes en Sirscan voor de Neosensitabs disks) gebruiken, de diameters rapporteren, geven wij in volgende tabellen de medianen, minima en maxima van deze diameters weer.

Tabel 4.1.8. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/7758 (*Staphylococcus aureus*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g/schijfje}$ )	Mediane diameter (mm)	Grenswaarden diameter (mm)	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline	6 (7)	6	17	14 - 20	-	-	7
Oxacilline	6 (6)	1	19	13 - 21	6	-	-
Cefoxitine	6 (6)	30	26.5	24 - 30	6	-	-
Erythromycine	7 (7)	15	9	6 - 9	-	-	7
Clindamycine	5 (5)	2	() <sup>1</sup>	() <sup>1</sup>	-	-	5
Chinolones							
Ciprofloxacin	5 (5)	5	6	6 - 8	-	-	5
Levofloxacin	2 (2)	5	6	6 - 6	-	-	2
Moxifloxacin	1 (1)	5	12	12 - 12	-	-	1
Norfloxacin	1 (1)	10	6	6 - 6	-	-	1
Ofloxacin	2 (2)	5	6	6 - 6	-	-	2

<sup>1</sup> De meeste laboratoria vermeldden de diameter doch vermeldden eveneens dat er een afplatting (positieve D-zone test) optrad; het leek ons derhalve weinig aangewezen mediaan, minimum en maximum van de diameters te berekenen.

Tabel 4.1.9.a. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (Neosensitabs ladingen) voor staal M/7758 (*Staphylococcus aureus*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g/schijfje}$ )	Mediane diameter (mm)	Grenswaarden diameter (mm)	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline	6 (6)	5	14	13 - 16	-	-	6
Oxacilline	4 (4)	1	18.5	16 - 21	4	-	-
Cefoxitine	6 (6)	60	32.5	32 - 40	6	-	-
Erythromycine	7 (7)	78	9	9 - 32	1	-	6
Clindamycine	7 (7)	25	() <sup>1</sup>	() <sup>1</sup>	2	1	4
Chinolones							
Ciprofloxacin	5 (5)	10	9	9 - 12	-	-	5
Levofloxacin	1 (1)	5	9	9 - 9	-	-	1

<sup>1</sup> De meeste laboratoria vermeldden de diameter doch vermeldden eveneens dat er een afplatting (positieve D-zone test) optrad; het leek ons derhalve weinig aangewezen mediaan, minimum en maximum van de diameters te berekenen.

Tabel 4.1.9.b. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (CLSI ladingen) voor staal M/7758 (*Staphylococcus aureus*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g/schijfje}$ ; voor penicilline; U/schijfje)	Mediane diameter (mm)	Grenswaarden diameter (mm)	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline	3 (3)	10	12	9 - 19	-	-	3
Oxacilline	2 (2)	1	20.5	19 - 22	2	-	-
Cefoxitine	4 (4)	30	28	23 - 28	4	-	-
Erythromycine	3 (3)	15	9	9 - 9	-	-	3
Clindamycine	3 (3)	2	() <sup>1</sup>	() <sup>1</sup>	2	-	1
Chinolones							
Ciprofloxacin	2 (2)	5	9	9 - 9	-	-	2
Levofloxacin	1 (1)	5	9	9 - 9	-	-	1

<sup>1</sup> De meeste laboratoria vermeldden de diameter doch vermeldden eveneens dat er een afplating (positieve D-zone test) optrad; het leek ons derhalve weinig aangewezen mediaan, minimum en maximum van de diameters te berekenen.

Acht laboratoria vermelden het gebruik van een screenbodem voor bepaling van de gevoeligheid van oxacilline of methicilline. Alle bodems leverden een gevoelig resultaat op.

De gebruikte bodems waren:

- Chrom ID MRSA (bioMérieux) (3 deelnemers)
- Oxacilline screen agar (Becton Dickinson) (2 deelnemers)
- MRSA-Select (Biorad) (1 deelnemer)
- 2 deelnemers vermelden de naam van de gebruikte bodem niet

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

De meeste wijzigingen van het ruw resultaat gebeurden uiteraard voor clindamycine, waarbij de laboratoria de positieve D-zone test correct interpreteerden als een geïnduceerde  $\text{MLS}_B$  resistentie; een overzicht van deze wijzigingen vindt u hieronder:

- ♣ S -> I
  - Papieren schijfjes: 1 labo
  - Rosco, Neosensitabs ladingen: 2 labo's
  - Rosco, CLSI ladingen: 1 labo
  - Vitek 2: 8 labo's
  - Vitek 2 compact: 1 labo
  - Sirscan, Neosensitabs ladingen: 1 labo
  
- ♣ S -> R
  - Papieren schijfjes: 21 labo's
  - Rosco, Neosensitabs ladingen: 27 labo's
  - Rosco, CLSI ladingen: 3 labo's
  - E-test: 1 labo
  - Vitek 2: 27 labo's
  - Vitek 2 compact: 12 labo's
  - ATB: 5 labo's
  - Osiris: 4 labo's
  - Sirscan, Neosensitabs ladingen: 3 labo's
  - Sirscan, CLSI ladingen: 1 labo

- ♣ I -> R
  - Papieren schijfjes: 3 labo's
  - Rosco, Neosensitabs ladingen: 1 labo
  - Osiris: 1 labo

Er was ook één laboratorium dat een ruw resultaat I voor moxifloxacin naar R wijzigde voor de Vitek 2.

## 4.2. Cultuur M/7759 (*Klebsiella pneumoniae*)

Aantal deelnemers = 183

Niet alle deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor alle antibiotica. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor meer dan één chinolone. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid met meer dan 1 methode; waar deze resultaten niet overeen kwamen hebben we in onderstaande tabel 4.2.1. ervoor geopteerd het meest resistente antwoord waar te geven.

Enkele laboratoria vermeldden de aanwezigheid van 2 verschillende fenotypes; drie onder hen geven aan enkel de meest resistente stam geantwoord te hebben. Drie anderen geven de resultaten van beide fenotypes weer (twee doen dit voor alle geteste antibiotica, één enkel voor de antibiotica waar zij een verschil opmerkten); om reden van vereenvoudiging hebben wij in onderstaande tabel 4.2.1. ook voor deze laboratoria enkel het meest resistente resultaat weerhouden; in de volgende tabellen worden beide fenotypes in rekening gebracht.

(ter informatie geven wij hier de resultaten van deze 3 laboratoria weer:

laboratorium 1: ampicilline en ciprofloxacin: 2 maal R; piperacilline-tazobactam: 2 maal S; amoxicilline-clavulaanzuur: I en S; ceftazidime en cefepime: R en S

laboratorium 2: ampicilline en ciprofloxacin: 2 maal R; piperacilline-tazobactam, amoxicilline-clavulaanzuur, ceftazidime, cefotaxime en cefepime: R en S

laboratorium 3: piperacilline-tazobactam en cefotaxime: I en S; ceftazidime: R en S).

Tabel 4.2.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/7759 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	I	I/R	R	*
Ampicilline	R	175	-	-	-	175	-
Amoxicilline <sup>1</sup>	R	3	-	-	-	3	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	R	182	23	31	-	127	1 <sup>2</sup>
Piperacilline-tazobactam		158	88	42	1	25	2 <sup>3,4</sup>
Ceftazidime		177	110	25	-	39	3 <sup>3,4,5</sup>
Cefotaxime		148	108	15	-	24	1 <sup>3</sup>
Cefepime	S	159	140	-	-	17	2 <sup>3,4</sup>
Ceftriaxon <sup>6</sup>		8	5	1	-	2	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	R	114	-	-	-	114	-
Levofloxacin	R	13	-	-	-	13	-
Moxifloxacin	R	1	-	-	-	1	-
Norfloxacin	R	48	-	-	-	48	-
Ofloxacin	R	11	-	-	-	11	-
Oxolinezuur	R	1	-	-	-	1	-
«Chinolone» <sup>7</sup>	R	16	-	-	-	16	-

<sup>1</sup> Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor amoxicilline in plaats van voor ampicilline.

<sup>2</sup> Eén laboratorium vermeldde ruw en expert resultaat (beide I) voor amoxicilline-clavulaanzuur maar liet het finale resultaat open.

<sup>3</sup> Eén laboratorium vermeldde ruw en expert resultaat (beide telkens S) voor piperacilline-tazobactam, ceftazidime, cefotaxime en cefepime maar liet het finale resultaat open voor deze antibiotica. Dit laboratorium vermeldde in een opmerking: «Vermoeden van AMP resistentie om volgende redenen: 1) cefoxitine resistent op Vitek 2 compact 2) doorgroei in ceftazidimezone 3) inductie van cefotaxime met amoxyclavulaanzuur; om deze reden worden de gevoelig gemeten  $\beta$ -lactams niet gerapporteerd; suggestie: meropenem testen.»

<sup>4</sup> Eén laboratorium vermeldde ruw resultaat (telkens S) voor piperacilline-tazobactam, ceftazidime en cefepime maar liet het finale resultaat open voor deze antibiotica.

- 5 Eén laboratorium vermeldde ruw en expert resultaat (beide S) voor ceftazidime maar liet het finale resultaat open.
- 6 Zes laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor ceftriaxone in plaats van voor cefotaxime; één bepaalde de gevoeligheid voor ceftriaxone in plaats van voor cefepime; en één laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor cefotaxime met de diffusietesten en voor ceftriaxone met de Phoenix.
- 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 met de papieren schijfjes of Neosensitabs schijfjes 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 papieren schijfjes volgens CLSI voor staal M/7759 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter (mm)	Grenswaarden diameter (mm)	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	I/R	R
Ampicilline	30 (34)	10	6	6 - 10	-	-	-	34
Amoxicilline-clavulaanzuur	28 (32)	20+10	12	6 - 26	5	5	-	22
Piperacilline-tazobactam	24 (29)	100+10	18	8 - 24	12	8	1	8
Ceftazidime	28 (31)	30	18	6 - 28,5	14	6	-	11
Cefotaxime	22 (25)	30	22	10 - 28	8	10	-	7
Cefepime	25 (28)	30	27	22 - 33	23	-	-	5 <sup>1</sup>
Ceftriaxone	2 (2)	30	22,5	22 - 23	2	-	-	-
Chinolones								
Ciprofloxacin	17 (18)	5	6	6 - 10	1 <sup>2</sup>	-	-	17
Levofloxacin	5 (6)	5	6	6 - 12	-	-	-	6
Norfloxacin	12 (13)	10	6	6 - 7	-	-	-	13
Ofloxacin	1 (1)	5	6	6 - 6	-	-	-	1
«Chinolone»	- (2)	-	-	-	-	-	-	2

<sup>1</sup> De 5 laboratoria die «R» geantwoord hebben voor cefepime, bekwamen een ruw resultaat «S», maar op basis van bijkomende testen en expertregels wijzigden zij dit naar een finaal resultaat «R».

<sup>2</sup> Eén laboratorium bewam met de schijfjes een ruw resultaat «R» voor ciprofloxacin doch antwoordde expert en finaal resultaat als «S»; in tabel 4.2.1. hebben wij het finale resultaat van de E-test («R») weerhouden

Voor de Neosensitabs schijfjes zijn er nu 2 ladingen beschikbaar: de «Neosensitabs-ladingen» («old», met de ROSCO richtlijnen) en de «CLSI-ladingen» («new», waarbij de CLSI richtlijnen gevolgd dienen te worden). U vindt de resultaten in tabellen 4.2.3. a en b. De resultaten van de laboratoria die de Sirscan gebruikt hebben om de diameters van deze schijfjes af te lezen vindt u in tabellen 4.2.9 a en b.

Tabel 4.2.3.a Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (Neosensitabs ladingen) voor staal M/7759 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g}$ /schijfje)	Mediane diameter (mm)	Grenswaarden diameter (mm)	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Ampicilline <sup>1</sup>	31 (37)	33	9	9 - 11	-	-	37	-
Amoxicilline	1 (2)	30	9	9 - 9	-	-	2	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	36 (41)	30+15	18	15 - 28	6	12	22	1 <sup>2</sup>
Piperacilline-tazobactam	24 (27)	100+10	20	13 - 26	4	14	9	-
Ceftazidime <sup>3</sup>	34 (40)	30	20	9 - 33	21	6	13	-
Cefotaxime	26 (30)	30	25.5	15 - 36	19	1	10	-
Cefepime	23 (27)	30	28	23 - 35	21	-	6	-
Ceftriaxone	4 (4)	30	27.5	25 - 32	2	-	2	-
Chinolones								
Ciprofloxacin	15 (20)	10	9	9 - 11	-	-	20	-
Levofloxacin	3 (4)	5	10	9 - 16	-	-	4	-
Norfloxacin	8 (9)	10	9	9 - 10	-	-	9	-
Ofloxacin <sup>4</sup>	6 (7)	10	9	9 - 10	-	-	7	-
Oxolinezuur	1 (1)	10	10	10 - 10	-	-	1	-
«Chinolone»	1 (1)	10	12	12 - 12	-	-	1	-

<sup>1</sup> Tevens antwoordde één laboratorium:  $\leq 9$  mm.

<sup>2</sup> Eén laboratorium vermeldde ruw en expert resultaat (beide I) voor amoxicilline-clavulaanzuur maar liet het finale resultaat open.

<sup>3</sup> Tevens antwoordde één laboratorium een diameter van 24 mm, maar vermeldde hierbij dat er tevens groei in de gevoelige zone was.

<sup>4</sup> Tevens antwoordde één laboratorium:  $\leq 9$  mm.

Tabel 4.2.3.b Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (CLSI ladingen) voor staal M/7759 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g}$ /schijfje)	Mediane diameter (mm)	Grenswaarden diameter (mm)	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	3 (4)	10	9	9 - 9	-	-	4
Amoxicilline-clavulaanzuur	5 (5)	20+10	13	13 - 17	-	2	3
Piperacilline-tazobactam	4 (4)	100+10	20.5	18 - 21	1	2	1
Ceftazidime	6 (6)	30	17.5	12 - 23	2	1	3
Cefotaxime	3 (3)	30	25	13 - 28	2	-	1
Cefepime	4 (4)	30	28.5	25 - 30	4	-	-
Ceftriaxone	1 (1)	30	27	27 - 27	1	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	2 (2)	5	9	9 - 9	-	-	2
Moxifloxacin	1 (1)	5	9	9 - 9	-	-	1
Norfloxacin	1 (1)	10	10	10 - 10	-	-	1
Ofloxacin	1 (1)	5	9	9 - 9	-	-	1

Slechts enkele laboratoria hebben de E-test gebruikt: één laboratorium voor alle antibiotica, andere laboratoria voor slechts één of enkele antibiotica. Deze resultaten worden weergegeven in tabel 4.2.4.

Tabel 4.2.4. Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor staal M/7759 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibioticum	Resultaat			MIC-waarde ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	S	I	R			
Ampicilline	-	-	1	128		
Amoxicilline-clavulaanzuur	1	-	-	3		
Piperacilline-tazobactam	2	1	1	3	16	>256
Ceftazidime	1	2	-	0.5	8 <sup>1</sup>	16
Cefotaxime	2	-	1	0.094	1.5	>256
Cefepime	3	-	-	<0.25	0.19	0.38
Ciprofloxacin	-	-	1	>32		

<sup>1</sup> Dit laboratorium vermeldt ook de aanwezigheid van doorgroei.

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/7759 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibioticum	Vitek 2				Vitek 2 compact							
	Finaal resultaat				Meest vermelde MIC waarde	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Finaal resultaat				Meest vermelde MIC waarde	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	I/R	R			S	I	R	*		
Ampicilline	-	-	-	60	$\geq 32$	55 (60)	-	-	23	-	$\geq 32$	20 (23)
Amoxicilline-clavulaanzuur	7	2	-	52	$\geq 32$	46 (61)	-	3	20	-	$\geq 32$	17 (23)
Piperacilline-tazobactam	51	8	1	2	8	37 (62)	15	5	-	2 <sup>1,2</sup>	8	12 (22)
Ceftazidime	44	14	-	3	Cfr. infra	(61)	15	2	3	3 <sup>1,2,3</sup>	Cfr. infra	(23)
Cefotaxime	52	4	-	2	$\leq 1$	51 (58)	19	-	2	1 <sup>1</sup>	$\leq 1$	18 (22)
Cefepime	58	-	-	2	$\leq 1$	55 (60)	20	-	1	2 <sup>1,2</sup>	$\leq 1$	19 (23)
Chinolones												
Ciprofloxacin	-	-	-	44	$\geq 4$	39 (44)	-	-	14	-	$\geq 4$	11 (14)
Levofloxacin	-	-	-	2	$\geq 8$	1 (2)	-	-	1	-	$\geq 4$	1 (1)
Norfloxacin	-	-	-	11	$\geq 16$	11 (11)	-	-	9	-	$\geq 16$	8 (9)
Ofloxacin	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	$\geq 8$	1 (1)
«Chinolone»	-	-	-	9	$\geq 4$	8 (9)	-	-	3	-	$\geq 4$	2 (3)

<sup>1</sup> Eén laboratorium vermeldde ruw en expert resultaat (beide telkens S) voor piperacilline-tazobactam, ceftazidime, cefotaxime en cefepime maar liet het finale resultaat open voor deze antibiotica. Dit laboratorium vermeldde in een opmerking: «Vermoeden van AMP resistentie om volgende redenen: 1) cefoxitine resistent op Vitek 2 compact 2) doorgroei in ceftazidimezone 3) inductie van cefotaxime met amoxyclavulaanzuur; om deze reden worden de gevoelig gemeten  $\beta$ -lactams niet gerapporteerd; suggestie: meropenem testen.»

<sup>2</sup> Eén laboratorium vermeldde ruw resultaat (telkens S) voor piperacilline-tazobactam, ceftazidime en cefepime maar liet het finale resultaat open voor deze antibiotica.

<sup>3</sup> Eén laboratorium vermeldde ruw en expert resultaat (beide S) voor ceftazidime maar liet het finale resultaat open.



De problemen die dit staal stelde, werden ook duidelijk vastgesteld met de Vitek toestellen. In onderstaande tekst bespreken we dan ook de MIC-waarden die voor bepaalde antibiotica bekomen werden.

- Amoxicilline-clavulaanzuur
  - ♣ Vitek 2: naast de meest vermelde MIC-waarde ( $\geq 32$  mg/l), geantwoord door 46 laboratoria, werden ook volgende waarden vermeld:
    - 2 laboratoria: 16 mg/l (beiden antwoordden: «I»)
    - 2 laboratoria: 4 mg/l (beiden antwoordden: «S»)
    - 6 laboratoria:  $\leq 2$  mg/l (5 antwoordden als finaal resultaat «S»; 1 bekwam een ruw resultaat «S» maar wijzigde dit naar een finaal resultaat «R»)
  - ♣ Vitek 2 compact: naast de meest vermelde MIC-waarde ( $\geq 32$  mg/l), geantwoord door 17 laboratoria, werd ook volgende waarde vermeld:
    - 3 laboratoria: 16 mg/l (alle 3 antwoordden: «I»)
- Piperacilline-tazobactam
  - ♣ Vitek 2: naast de meest vermelde MIC-waarde (8 mg/l), geantwoord door 37 laboratoria (waarvan 36 het finale resultaat «S» gaven en 1 een ruw resultaat «S» naar finaal «R» wijzigde), werden ook volgende waarden vermeld:
    - 8 laboratoria:  $\leq 4$  mg/l (7 antwoordden als finaal resultaat «S»; 1 bekwam een ruw resultaat «S» maar wijzigde dit naar een finaal resultaat «R»)
    - 5 laboratoria: 16 mg/l (4 antwoordden als finaal resultaat «S»; 1 bekwam een ruw resultaat «S» maar wijzigde dit naar een finaal resultaat «I»)
    - 5 laboratoria: 32 mg/l (alle 5 antwoordden: «I»)
    - 2 laboratoria: 64 mg/l (beiden antwoordden: «I»)
  - ♣ Vitek 2 compact: naast de meest vermelde MIC-waarde (8mg/l), geantwoord door 12 laboratoria (finaal resultaat: «S»), werden ook volgende waarden vermeld:
    - 1 laboratorium:  $\leq 4$  mg/l (dit betreft het hierboven vermelde laboratorium dat de opmerking over de vermoedelijke AMP resistentie gaf)
    - 1 laboratorium: 16 mg/l (finaal resultaat «S»)
    - 5 laboratoria: 32 mg/l (alle 5 antwoordden: «I»)
- Ceftazidime
  - ♣ Vitek 2:
    - 8 laboratoria:  $\leq 1$  mg/l ( 7 antwoordden als finaal resultaat «S»; 1 bekwam een ruw resultaat «S» maar wijzigde dit naar een finaal resultaat «I»)
    - 15 laboratoria: 4 mg/l (allen antwoordden: «S»)
    - 22 laboratoria: 8 mg/l (18 antwoordden als finaal resultaat «S»; 2 bekwamen een ruw resultaat «S» maar wijzigden dit naar een finaal resultaat «I»; 2 anderen bekwamen een ruw resultaat «S» maar wijzigden dit naar een finaal resultaat «R» )
    - 10 laboratoria: 16 mg/l (allen antwoordden: «I»)
    - 1 laboratorium:  $\geq 64$  mg/l (finaal resultaat «R»)

- ♣ Vitek 2 compact:
  - 2 laboratoria: 4 mg/l (beiden antwoordden: «S»)
  - 15 laboratoria: 8 mg/l (11 antwoordden als finaal resultaat «S»; 2 bekwamen een ruw resultaat «S» maar wijzigden dit naar een finaal resultaat «R»; ook 2 van de laboratoria die het finale resultaat open lieten behoren tot deze groep)
  - 2 laboratoria: 16 mg/l (beiden antwoordden: «I»)
  - 1 laboratorium:  $\geq 64$  mg/l (finaal resultaat «R»)
- Ciprofloxacin
  - ♣ Vitek 2: 1 laboratorium bekwam een MIC  $\geq 64$  mg/l
- Quinolones
  - ♣ Vitek 2: 1 laboratorium bekwam een MIC  $\geq 16$  mg/l
  - ♣ Vitek 2 compact: 1 laboratorium bekwam een MIC  $\geq 16$  mg/l

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

Tabel 4.2.6. Resultaten bekomen met de ATB methode voor M/7759 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Ampicilline	-	-	8
Amoxicilline	-	-	1
Amoxicilline-clavulaanzuur	3	-	7
Piperacilline-tazobactam	5	-	1
Ceftazidime	8	-	2
Cefotaxime	7	-	1
Cefepime	5	-	1
Chinolones			
Ciprofloxacin	-	-	8
Norfloxacin	-	-	2

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.2.7.

Tabel 4.2.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/7759 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibioticum	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Ampicilline	-	-	8	> 16	7 (8)
Amoxicilline-clavulaanzuur	1	-	7	> 16/8	6 (8)
Piperacilline-tazobactam	2	4	2	Cfr. infra	(8)
Ceftazidime	5	1	2	Cfr. infra	(8)
Cefotaxime	2	-	-	≤ 2	2 (2)
Cefepime	7	-	1	≤ 2	6 (8)
Ceftriaxone	-	1	-	≤ 2	1 (1)
Chinolones					
Ciprofloxacin	-	-	6	> 2	6 (6)
Norfloxacin	-	-	1	≥ 16	1 (1)
«Chinolone»	-	-	1	> 2	1 (1)

De problemen die dit staal stelde, werden ook duidelijk vastgesteld met de Phoenix. In onderstaande tekst bespreken we dan ook de MIC-waarden die voor bepaalde antibiotica bekomen werden

- Ampicilline
  - o 1 laboratorium vermeldde een MIC ≥ 32 mg/l
- Amoxicilline-clavulaanzuur: naast de meest vermelde MIC-waarde (> 16/8 mg/l), geantwoord door 6 laboratoria, werden ook volgende waarden vermeld:
  - o 1 laboratorium: ≤ 4/2 mg/l (finaal resultaat «S»)
  - o 1 laboratorium: ≥ 32 mg/l (finaal resultaat «R»)
- Piperacilline-tazobactam
  - o 1 laboratorium: 64/4 mg/l (finaal resultaat «I»)
  - o 1 laboratorium: 64 mg/l (finaal resultaat «I»)
  - o 1 laboratorium: > 32/4 mg/l (dit laboratorium bekwam een ruw resultaat «I» maar wijzigde dit naar een finaal resultaat «R»)
  - o 1 laboratorium: 32/4 mg/l (finaal resultaat «I»)
  - o 1 laboratorium: 32 mg/l (finaal resultaat «I»)
  - o 2 laboratoria: 16/4 mg/l (1 antwoordde als finaal resultaat «S»; het andere bekwam een ruw resultaat «S» maar wijzigde dit naar een finaal resultaat «R»)
  - o 1 laboratorium: ≤ 4/4 mg/l (finaal resultaat «S»)
- Ceftazidime
  - o 1 laboratorium: 16 mg/l (finaal resultaat «I»)
  - o 1 laboratorium: 8 mg/l (dit laboratorium bekwam een ruw resultaat «S» maar wijzigde dit naar een finaal resultaat «R»)
  - o 5 laboratoria: 4 mg/l (4 antwoordden als finaal resultaat «S»; 1 laboratorium bekwam een ruw resultaat «S» maar wijzigde dit naar een finaal resultaat «R»)
  - o 1 laboratorium : ≤ 1 mg/l (finaal resultaat «S»)

- Cefepime: naast de meest vermelde MIC-waarde ( $\leq 2$  mg/l), geantwoord door 6 laboratoria (waarvan 5 het finale resultaat «S» gaven en 1 een ruw resultaat «S» naar finaal «R» wijzigde), werden ook volgende waarden vermeld:
  - o 1 laboratorium:  $< 1$  mg/l (finaal resultaat «S»)
  - o 1 laboratorium:  $\leq 1$  mg/l (finaal resultaat «S»)
- Ceftriaxone: dit laboratorium bekwam een ruw resultaat «S» maar wijzigde dit naar een finaal resultaat «I»

De resultaten bekomen met de toestellen Osiris en Sirscan worden weergegeven in tabel 4.2.8. en 4.2.9 a en b. Gezien alle deelnemers die deze afleestoestellen (Osiris voor de papieren schijfjes en Sirscan voor de Neosensitabs disks) gebruiken, de diameters rapporteren, geven wij in volgende tabellen de medianen, minima en maxima van deze diameters weer.

Tabel 4.2.8. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/7759 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g/schijfje}$ )	Mediane diameter (mm)	Grenswaarden diameter (mm)	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	8 (8)	10	6	6 - 7	-	-	8
Amoxicilline-clavulaanzuur	8 (8)	20+10	14.5	6 - 24	2	3	3
Piperacilline-tazobactam	6 (6)	100+10	19	12 - 23	3	-	3
Ceftazidime	6 (6)	30	18	6 - 26	4	-	2
Cefotaxime	5 (5)	30	17	9 - 26	2	1	2
Cefepime	8 (8)	30	29	24 - 31	7	-	1
Chinolones							
Ciprofloxacin	4 (4)	5	6	6 - 8	-	-	4
Levofloxacin	2 (2)	5	6	6 - 6	-	-	2
Norfloxacin	5 (5)	10	6	6 - 7	-	-	5
Ofloxacin	1 (1)	5	8	8 - 8	-	-	1

Tabel 4.2.9.a. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (Neosensitabs ladingen) voor staal M/7759 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g/schijfje}$ )	Mediane diameter (mm)	Grenswaarden diameter (mm)	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	8 (8)	33	9	9 - 12	-	-	8
Amoxicilline-clavulaanzuur	8 (8)	30+15	19.5	18 - 27	3	4	1
Piperacilline-tazobactam	7 (7)	100+10	23	20 - 26	4	2	1
Ceftazidime	8 (8)	30	23.5	14 - 32	5	-	3
Cefotaxime	4 (4)	30	31.5	28 - 35	3	-	1
Cefepime	8 (8)	30	30.5	27 - 35	6	-	2
Chinolones							
Ciprofloxacin	5 (5)	10	9	9 - 12	-	-	5
Levofloxacin	2 (2)	5	11	9 - 13	-	-	2
Norfloxacin	1 (1)	10	9	9 - 9	-	-	1

Tabel 4.2.9.b. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (CLSI ladingen) voor staal M/7759 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g/schijfje}$ )	Mediane diameter (mm)	Grenswaarden diameter (mm)	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	2 (2)	10	9	9 - 9	-	-	2
Amoxicilline-clavulaanzuur	3 (3)	20+10	14	12 - 15	-	2	1
Piperacilline-tazobactam	3 (3)	100+10	21	17 - 21	2	-	1
Ceftazidime	2 (2)	30	14,5	9 - 20	1	-	1
Cefotaxime	2 (2)	30	21,5	16 - 27	1	-	1
Cefepime	3 (3)	30	29	24 - 30	2	-	1
Chinolones							
Ciprofloxacin	2 (2)	5	9	9 - 9	-	-	2
Levofloxacin	1 (1)	5	9	9 - 9	-	-	1

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

Eén laboratorium gaf expert en finaal resultaat «R» voor cefotaxime maar vermeldde dat het dit antibioticum niet getest had.

Hieronder geven wij de wijzigingen weer van het ruw resultaat naar het finale resultaat, die de laboratoria uitgevoerd hebben:

- Amoxicilline-clavulaanzuur

- ♣ I -> R
  - Rosco (Neosensitabs ladingen): 10 labo's
  - Rosco (CLSI ladingen): 1 labo
  - Sirscan (Neosensitabs ladingen): 1 labo
  
- ♣ I -> geen finaal antwoord
  - Rosco (Neosensitabs ladingen): 1 labo
  
- ♣ I -> S
  - Rosco (Neosensitabs ladingen): 1 labo
  
- ♣ I/S -> I
  - Rosco (Neosensitabs ladingen): 1 labo
  
- ♣ S -> I
  - Sirscan (Neosensitabs ladingen): 1 labo
  
- ♣ S -> R
  - Rosco (Neosensitabs ladingen): 1 labo
  - Vitek 2: 1 labo

- Piperacilline-tazobactam:

- ♣ I -> I/R
  - Papieren schijfjes: 1 labo
  - Vitek 2: 1 labo
  
- ♣ I -> R
  - Papieren schijfjes: 1 labo
  - Rosco (Neosensitabs ladingen): 4 labo's
  - Rosco (CLSI ladingen): 1 labo
  - Phoenix: 1 labo
  - Sirscan (Neosensitabs ladingen): 1 labo
  
- ♣ I -> S
  - Rosco (Neosensitabs ladingen): 1 labo
  
- ♣ S -> I
  - Rosco (CLSI ladingen): 1 labo
  - Vitek 2: 1 labo
  
- ♣ S -> R
  - Vitek 2: 2 labo's
  - ATB: 1 labo
  - Phoenix: 1 labo
  
- ♣ S -> geen finaal antwoord
  - Vitek 2 compact: 2 labo's

- Ceftazidime

- ♣ I -> R
  - Papieren schijfjes: 1 labo
  - Rosco (Neosensitabs ladingen): 1 labo
  - Rosco (CLSI ladingen): 1 labo
  
- ♣ S -> I
  - Papieren schijfjes: 1 labo
  - Rosco (Neosensitabs ladingen): 1 labo
  - Vitek 2: 3 labo's
  
- ♣ S -> R
  - Papieren schijfjes: 3 labo's
  - Rosco (Neosensitabs ladingen): 4 labo's
  - Rosco (CLSI ladingen): 1 labo
  - Vitek 2: 2 labo's
  - Vitek 2 compact: 2 labo's
  - ATB: 2 labo's
  - Phoenix: 2 labo's
  - Sirscan (Neosensitabs ladingen): 1 labo
  
- ♣ S -> geen finaal antwoord
  - Vitek 2 compact: 3 labo's

- Cefotaxime

- ♣ I -> R
  - Papieren schijfjes: 2 labo's
  - Rosco (Neosensitabs ladingen): 1 labo
  - Sirscan (CLSI ladingen): 1 labo
  
- ♣ S -> I
  - Papieren schijfjes: 1 labo
  - Rosco (Neosensitabs ladingen): 1 labo
  - Vitek 2: 4 labo's
  
- ♣ S -> R
  - Papieren schijfjes: 3 labo's
  - Rosco (Neosensitabs ladingen): 6 labo's
  - Vitek 2: 2 labo's
  - Vitek 2 compact: 2 labo's
  - ATB: 1 labo
  
- ♣ S -> geen finaal antwoord
  - Vitek 2 compact: 1 labo

- Cefepime

- ♣ S -> R
  - Papieren schijfjes: 5 labo's
  - Rosco (Neosensitabs ladingen): 6 labo's
  - Vitek 2: 2 labo's
  - Vitek 2 compact: 1 labo
  - ATB: 1 labo
  - Phoenix: 1 labo
  - Osiris: 1 labo
  - Sirscan (Neosensitabs ladingen): 2 labo's
  - Sirscan (CLSI ladingen): 1 labo
  
- ♣ S -> geen finaal antwoord
  - Vitek 2 compact: 2 labo's

- Ceftriaxone

- ♣ S -> I
  - Phoenix: 1 labo
  
- ♣ S -> R
  - Rosco (Neosensitabs ladingen): 2 labo's



De moeilijkheid van dit staal kwam eveneens tot uiting in de grote hoeveelheid opmerkingen die de laboratoria gegeven hebben; in onderstaande tabel 4.2.10. vindt u een overzicht van deze opmerkingen.

#### 4.2.10. Opmerkingen bij staal M/7759 (*Klebsiella pneumoniae*)

Opmerking	N labo's
ESBL negatief	6
AmpC positief	5
ESBL positief	3
Doorgroei in de gevoelige zone bij ceftazidime	3
Verworven cefalosporinase	2
Mogelijks 2 fenotypes: meest resistente doorgegeven	2
Afgeplatte inhibitiezones bij 3e generatie cefalosporines door AMC; cefoxitine = R: 1) -> ampC?	1
2) -> grote kans op therapiefalen met 3e gen cefalosporines?: alles R gemaakt	
Antagonisme cefta/cefta clav ipv synergisme: -> inducible plasmide gemedieerde amp C; Vitek 2 detecteert enkel acquired penicillinase en acquired cefalosporinase; doet geen aanpassing van ctx, nog van cefta. In antwoord naar arts toe zou ik vermelden resultaten van cefepime toch voorzichtig te interpreteren gezien hier geen duidelijke consensus over bestaat. Artikels spreken over 'vermoedelijk gevoelig' in dit geval.	1
Cave resistente subpopulaties/mutaties (piptazo en 3e gen cefalo)	1
DD Caz-CazClav en CTX-CtxClav negatief voor <i>Klebsiella</i>	1
De cefalosporines van deze <i>K. pneumoniae</i> heb ik resistent gemaakt om 2 redenen: 1. het gaat waarschijnlijk om 2 stammen, waarvan 1 resistent is aan de cefalosporines, behalve aan cefepime. 2. er is lichte synergie tussen cefepime en amoxyclav.; dit geeft een atypisch beeld voor ESBL. Daarom ook cefepime resistent gemaakt.	1
De <i>Klebsiella</i> stam is «gevoelig» aan meeste AB maar bevat resistente mutanten (deze mutanten zijn natuurlijk van klinisch belang)	1
Deze stam werd onderworpen aan ESBL detectie dmv 1) dubbeldisk synergietest: -> extensie van de inhibitiezone van cefepime naar AMCL (geen extensie voor ctx en cefta) 2) ESBL confirmatietest Ø cefep+AMCL > Ø cefep en Ø cefta+AMCL > Ø cefta (maar geen 5 mm zoals voorgeschreven door CLSI)	1
D-vorm met clavulaanzuur: -> hyperproducer	1
Er bestaat een interpretatieregel voor groep 3 van de enterobacteriaceae maar niet voor groep 2	1
De Vitek waarschuwt voor een ESBL met de galerij AST-NO45 die niet bevestigd wordt door de dubbele disk methode (cefepime/clav vs cefepime)	1
Soms behandeling met cefepime maar eerder met carbapenem <sup>1</sup>	1
Productie van ESBL (Ø cefta ≤22mm maar geen « champagnekurk » tussen cefta en AMC).	1
Confirmatietesten uitvoeren	
Champagnekurk-test negatief	1
Vermoeden van AMP resistentie om volgende redenen: 1) cefoxitine resistent op Vitek 2 compact 2) doorgroei in ceftazidimezone 3) inductie van cefotaxime met amoxyclav; om deze reden worden de gevoelig gemeten β-lactams niet gerapporteerd; suggestie: meropenem testen.	1
Totaal	35

<sup>1</sup> Dit laboratorium vond alle antibiotica resistent.

## V. PARASITOLOGIE

### 5.1. De monsters

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

Staal P/7870:

«Een man van 40 jaar keert terug van een verblijf in Ghana. Hij heeft mefloquine genomen als profylaxe.»

Staal P/7875:

«25-jarige Afrikaanse vrouw die in België leeft. Voorgeschiedenis van malaria.  
Reis naar Ivoorkust in januari 2007 (geen profylaxe).

Eind juni 2007: sinds ongeveer 2 weken een persisterende «griepaal» syndroom met koorts tot 39,5°C (bevestigd op de spoedopnamen) en frontale hoofdpijn.»

Staal P/7870 bevatte trofozoïeten van *Plasmodium ovale*.

Staal P/7875 bevatte trofozoïeten van *Plasmodium malariae*.

In een aantal preparaten konden ook schizonten waargenomen worden.  
De identificatie van de parasieten werd bevestigd met PCR.

183 laboratoria hebben een antwoord ingestuurd.

Het aantal toolkit gebruikers bedroeg 55.7%. 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/7870

De 183 laboratoria leverden 195 antwoorden in. 171 laboratoria antwoordden één parasiet en 12 antwoordden 2 parasieten.

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.2.1.1. Resultaten voor staal P/7870

Resultaat	Aantal
<i>Plasmodium ovale</i>	35
<i>Plasmodium species</i>	38
<i>Plasmodium non-falciparum</i>	11
<i>Plasmodium falciparum</i>	53
<i>Plasmodium vivax</i>	21
<i>Plasmodium malariae</i>	20
<i>P. falciparum</i> of <i>malariae</i>	1
<i>Plasmodium species/ falciparum</i>	1
<i>Pentatrachomonas hominis</i>	7
<i>Babesia species</i>	3
<i>Leishmania donovani</i> complex	1
<i>Leishmania tropica</i> complex	1
<i>Leishmania tropica</i> complex of <i>Naegleria fowleri</i>	1
Microsporidia	1
Microfilaria	1
Totaal	195

Een aantal van de foutieve antwoorden zijn meer dan waarschijnlijk te wijten aan het gebruik van oudere codes; wij wensen te benadrukken dat men steeds de meest recente codes moet gebruiken; in geval men hier niet meer over beschikt, kan men steeds een nieuw exemplaar aanvragen; tevens staan deze codes op onze website op de pagina:

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

en vervolgens klikt men op «codes». Het gebruik van de toolkit vermijdt dit probleem aangezien men hier de naam en evolutiestadia van de parasiet kan kiezen uit een aflopende lijst.

Een aantal van de laboratoria die *P. non-falciparum* of *Plasmodium species* geantwoord hebben, geven in een opmerking een mogelijke suggestie aan voor het speciestype; bij *P. non-falciparum* suggeren telkens 2 laboratoria *P. ovale* en *P. malariae* en 1 laboratorium *P. vivax*. Bij *Plasmodium species* suggereren 7 laboratoria *P. falciparum*, 2 *P. ovale*, 2 *P. malariae* en 1 *P. vivax*. Nagenoeg al deze laboratoria beklemtonen echter dat ze het staal in routine naar het referentiecentrum (Instituut voor Tropische Geneeskunde in Antwerpen) zouden sturen voor een definitieve species-identificatie. Ook een aantal andere laboratoria die *P. non-falciparum* of *Plasmodium species* antwoordden, benadrukken dit. Een aantal van de laboratoria die het speciesniveau geantwoord hebben, vermeldden eveneens dat zij in routine dit speciesniveau zouden laten bevestigen door het referentiecentrum.

Een aantal laboratoria vermeldden eveneens dat zij in routine gebruik maken van een antigenetest als bijkomende analyse.

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Plasmodium ovale* worden in volgende tabel weergegeven. 28 laboratoria hebben 1 evolutiestadium geantwoord, 6 laboratoria hebben 2 evolutiestadia geantwoord en 1 laboratorium heeft 3 evolutiestadia geantwoord.

Tabel 5.2.1.2. Evolutiestadia voor *Plasmodium ovale* voor staal P/7870

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Trofozoïet	35
Schizont	5
Rijpe of oudere schizont	2
Jonge schizont	1
Totaal	43

De combinaties van evolutiestadia voor *Plasmodium ovale* worden in tabel 5.2.1.3. weergegeven.

Tabel 5.2.1.3. Combinaties van de evolutiestadia die voor *Plasmodium ovale* voor staal P/7870 geantwoord werden

Aantal evolutiestadia	Evolutiestadium	Aantal laboratoria
1 evolutiestadium	Trofozoïet	28
2 evolutiestadia	Trofozoïet + oudere schizont	4
	Trofozoïet + schizont	1
	Trofozoïet + jonge schizont	1
3 evolutiestadia	Trofozoïet + schizont + oudere schizont	1
	Totaal	35

Voor *Plasmodium non-falciparum* hebben 8 laboratoria 1 evolutiestadium geantwoord en 3 laboratoria 2 evolutiestadia. Een overzicht van deze stadia wordt gegeven in tabel 5.2.1.4. De combinaties van de geantwoorde evolutiestadia wordt in tabel 5.2.1.5 getoond.

Tabel 5.2.1.4. Evolutiestadia voor *Plasmodium non-falciparum* voor staal P/7870

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Trofozoïet	10
Gametocyt	3
Schizont	1
<b>Totaal</b>	<b>14</b>

Tabel 5.2.1.5. Combinaties van de evolutiestadia die voor *Plasmodium non-falciparum* voor staal P/7870 geantwoord werden

Aantal evolutiestadium	Evolutiestadium	Aantal laboratoria
1 evolutiestadium	Trofozoïet	7
	Schizont	1
2 evolutiestadia	Trofozoïet + gametocyt	3
	<b>Totaal</b>	<b>11</b>

Voor *Plasmodium species* hebben 35 laboratoria 1 evolutiestadium geantwoord, 2 hebben 2 stadia geantwoord en 1 heeft 3 stadia geantwoord. Een overzicht van deze stadia wordt gegeven in tabel 5.2.1.6. De combinaties van de geantwoorde evolutiestadia wordt in tabel 5.2.1.7 getoond.

Tabel 5.2.1.6. Evolutiestadia voor *Plasmodium species* voor staal P/7870

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Trofozoïet	37
Gametocyt	2
Rijpe of oudere schizont	1
Jonge schizont	1
Sporocyste	1
<b>Totaal</b>	<b>42</b>

Tabel 5.2.1.7. Combinaties van de evolutiestadia die voor *Plasmodium* species voor staal P/7870 geantwoord werden.

Aantal evolutiestadia	Evolutiestadia	Nombre de laboratoires
1 evolutiestadium	Trofozoïet	34
	Schizont	1
2 evolutiestadia	Trofozoïet + gametocyt	1
	Trofozoïet + jonge schizont	1
3 evolutiestadia	Trofozoïet + gametocyt + oudere schizont	1
Totaal		38

Niet alle laboratoria vermeldden het aantal waargenomen parasieten. Voor *Plasmodium ovale* geven we voor de trofozoïeten de aantallen van de meest gebruikte eenheid weer in tabel 5.2.1.8.

Tabel 5.2.1.8. Mediaan, minimum en maximum voor trofozoïet voor *Plasmodium ovale* voor staal P/7870 (uitgedrukt in ‰)

Aantal labos	Mediaan	Minimum	Maximum
22	3	1	10

Tevens antwoordden 4 laboratoria <1, 3 laboratoria 1 à 2, 2 antwoordden 2 à 3, 1 antwoordde 5 à 10; 1 antwoordde dat de aantallen varieerden naargelang de bestudeerde velden en 1 gaf geen aantal weer. Eén laboratorium antwoordde: «2 trofozoïeten/plaatje».

Drie laboratoria antwoordden voor de schizonten <1 ‰ en één laboratorium 2 ‰. Zowel voor jonge als voor oude schizont antwoordde telkens één laboratorium <1‰. Het laboratorium dat vermeldde dat de aantallen varieerden in functie van de bestudeerde velden voor de trofozoïeten, gaf hetzelfde antwoord voor de schizonten.

### 5.2.2 Staal P/7875

De 183 laboratoria hebben 190 parasieten geantwoord. 176 laboratoria antwoordden één parasiet en 7 antwoordden 2 parasieten.

De parasieten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.2.2.1. Antwoorden voor staal P/7875

Parasiet	Aantal
<i>Plasmodium malariae</i>	81
<i>Plasmodium species</i>	37
<i>Plasmodium non-falciparum</i>	17
<i>Plasmodium falciparum</i>	25
<i>Plasmodium ovale</i>	11
<i>Plasmodium vivax</i>	10
<i>Plasmodium falciparum</i> of <i>malariae</i>	1
<i>Pentatrachomonas hominis</i>	4
<i>Loa loa</i>	1
<i>Naegleria fowleri</i>	1
<i>Leishmania tropica</i> complex	1
<i>Leishmania donovani</i> complex	1
Totaal	190

Ook voor dit staal zijn een aantal van de foutieve antwoorden meer dan waarschijnlijk te wijten aan laboratoria die oudere codes gebruikt hebben. Een aantal van de laboratoria die *P. non-falciparum* of *Plasmodium species* geantwoord hebben, geven in een opmerking een mogelijke suggestie aan voor het speciestype; bij *P. non-falciparum* suggereren telkens 2 laboratoria *P. ovale* en *P. malariae*, 1 laboratorium *P. vivax* of *ovale* en 1 laboratorium *P. malariae* of *ovale*. Bij *Plasmodium species* suggereren 3 laboratoria *P. malariae*, 1 *P. ovale*, 1 *P. falciparum* en 1 *P. ovale* of *falciparum*. Nagenoeg al deze laboratoria beklemtonen echter dat ze het staal in routine naar het referentiecentrum (Instituut voor Tropische Geneeskunde in Antwerpen) zouden sturen voor een definitieve species-identificatie. Ook een aantal andere laboratoria die *P. non-falciparum* of *Plasmodium species* antwoordden, benadrukken dit. Een aantal van de laboratoria die het speciesniveau geantwoord hebben, vermeldden eveneens dat zij in routine dit speciesniveau zouden laten bevestigen door het referentiecentrum. Een aantal laboratoria vermeldden eveneens dat zij in routine gebruik maken van een antigentest als bijkomende analyse. Eén laboratorium vermeldde het belang van een dikdruppel, een ander de noodzaak tot het uitvoeren van serologie.

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Plasmodium malariae* worden in tabel 5.2.2.2. weergegeven. 14 laboratoria hebben 1 evolutiestadium geantwoord en 57 laboratoria hebben 2 evolutiestadia geantwoord.

Tabel 5.2.2.2. Evolutiestadia voor *Plasmodium malariae* voor staal P/7875

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Trofozoïet	79
Schizont	35
Rijpe of oudere schizont	29
Gametocyt	8
Jonge schizont	5
Sporocyste	1
Volwassen vorm	1
<b>Totaal</b>	<b>158</b>

De combinaties van evolutiestadia voor *Plasmodium malariae* worden in tabel 5.2.2.3. weergegeven.

Tabel 5.2.2.3. Combinaties van de evolutiestadia die voor *Plasmodium malariae* voor staal P/7875 geantwoord werden.

Aantal evolutiestadia	Evolutiestadium	Aantal laboratoria
1 evolutiestadium	Trofozoïet	14
2 evolutiestadia	Trofozoïet + schizont	31
	Trofozoïet + oudere schizont	21
	Trofozoïet + jonge schizont	2
	Trofozoïet + sporocyste	1
	Oudere schizont + gametocyt	1
	Oudere schizont + volwassen vorm	1
3 evolutiestadia	Trofozoïet + schizont + gametocyt	4
	Trofozoïet + oudere schizont + gametocyt	3
	Trofozoïet + oudere schizont + jonge schizont	3
<b>Totaal</b>		<b>81</b>



Voor *Plasmodium non-falciparum* hebben 7 laboratoria 1 evolutiestadium geantwoord, 9 laboratoria 2 evolutiestadia en 1 laboratorium 3 evolutiestadia. Een overzicht van deze stadia wordt gegeven in tabel 5.2.2.4. De combinaties van de geantwoorde evolutiestadia wordt in tabel 5.2.2.5 getoond.

Tabel 5.2.2.4. Evolutiestadia voor *Plasmodium non-falciparum* voor staal P/7875

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Trofozoïet	15
Schizont	9
Gametocyt	2
Oudere of rijpe schizont	2
Totaal	28

Tabel 5.2.2.5. Combinaties van de evolutiestadia die voor *Plasmodium non-falciparum* voor staal P/7875 geantwoord werden.

Aantal evolutiestadia	Evolutiestadium	Aantal laboratoria
1 evolutiestadium	Trofozoïet	5
	Schizont	1
	Oudere schizont	1
2 evolutiestadia	Trofozoïet + schizont	7
	Trofozoïet + oudere schizont	1
	Trofozoïet + gametocyt	1
3 evolutiestadia	Trofozoïet + schizont + gametocyt	1
Totaal		17

Voor *Plasmodium* species hebben 23 laboratoria 1 evolutiestadium geantwoord, 13 hebben 2 stadia en 1 heeft 3 stadia geantwoord. Een overzicht van deze stadia wordt gegeven in tabel 5.2.2.6. De combinaties van de geantwoorde evolutiestadia wordt in tabel 5.2.2.7 getoond.

Tabele 5.2.2.6. Evolutiestadia voor *Plasmodium* species voor staal P/7875

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Trofozoïet	34
Schizont	13
Sporocyste	2
Gametocyt	1
Oudere of rijpe schizont	1
Microfilaria	1
Totaal	52

Ook hier zijn een aantal van de «eigenaardige» resultaten meer dan waarschijnlijk te wijten aan het gebruik van oudere codes.

Tabel 5.2.2.7. Combinaties van de evolutiestadia die voor *Plasmodium* species voor staal P/7875 geantwoord werden.

Aantal evolutiestadia	Evolutiestadium	Aantal laboratoria
1 evolutiestadium	Trofozoïet	21
	Schizont	1
	Sporocyste	1
2 evolutiestadia	Trofozoïet + schizont	11
	Trofozoïet + oudere schizont	1
	Sporocyste + microfilaria	1
3 evolutiestadia	Trofozoïet + gametocyt + schizont	1
Totaal		37

Niet alle laboratoria vermeldden het aantal waargenomen parasieten. Voor *Plasmodium malariae* geven we voor de trofozoïeten de aantallen van de meest gebruikte eenheid weer in tabel 5.2.2.8.

Tabel 5.2.2.8. Mediaan, minimum en maximum voor trofozoïet voor *Plasmodium malariae* voor staal P/7875 (uitgedrukt in ‰)

Aantal labos	Mediaan	Minimum	Maximum
51	2	1	25

Tevens antwoordden 11 laboratoria <1, 8 laboratoria 1 à 2, 4 antwoordden 2 à 3, 1 antwoordde 3 à 4 en 3 antwoordden 5 à 10; 1 antwoordde «veel».

Voor de schizonten antwoordden 23 laboratoria <1 ‰, 4 antwoordden 1 ‰ en 1 antwoordde 25 ‰. 2 laboratoria antwoordden «zeldzaam», 3 antwoordden 2 à 3 per plaatje en 1 gaf het antwoord 3 per plaatje.

Voor de oude schizonten antwoordden 16 laboratoria <1‰, 3 antwoordden 1‰, 1 antwoordde 2‰ en 1 antwoordde 15‰. Eén laboratorium antwoordde 2 à 3‰. Daarnaast antwoordde 1 laboratorium <1 per plaatje, 3 antwoordden 1 per plaatje en telkens één antwoordden respectievelijk 2, 3 en 10 per plaatje.

Voor de jonge schizonten antwoordden 2 laboratoria <1‰ en 3 antwoordden 1‰.

Voor de gametocyten antwoordden 4 laboratoria <1‰, één antwoordde 2‰, één 15‰ en één «zeldzaam».

### 5.3 Commentaar op de resultaten van de enquête 2007/3 parasitologie

De commentaar bij deze enquête richt zich op 2 punten: de species identificatie en het bepalen van de parasitemie. Wij gaan langs de zijlijn ook even in op een «nieuwe» Plasmodium-species, *Plasmodium knowlesi*.

#### 5.3.1. Commentaar op de species identificatie

##### *Hoe goed zijn de species identificaties geantwoord?*

Staal P/7870, *Plasmodium ovale*.

Indien we de vermoedelijk fout gecodeerde antwoorden (*Pentatrichomonas*...) buiten beschouwing laten komen we tot 180 antwoorden die in 4 groepen kunnen onderverdeeld worden:

Groep (aantal, % van totaal aantal antwoorden)	Antwoord	Commentaar
Groep I, n = 35,(19.4%)	<i>P. ovale</i>	Correct
Groep II, n = 52 (28.8%)	<i>P. non-falciparum</i> (11), <i>P. vivax</i> (21), <i>P. malariae</i> (20)	«Minor error» Aanvaardbaar
Groep III n = 38 (21,1%)	<i>P. species</i> (n = 38)	Major error
Groep IV n = 55 (30.5%)	<i>P. falciparum</i> (n = 53) <i>P. falciparum</i> mengsel(n = 2)	Major error

Groep I antwoordde de correcte species. Groep II kwam tot een verkeerde species identificatie of antwoordde een species identificatie tot op «non-falciparum» niveau. Dit antwoord is parasitologisch niet correct maar is te beschouwen als een «minor error» in een diagnostische context van een niet-gespecialiseerd laboratorium omdat het medisch/diagnostisch de diagnose en de behandeling correct oriënteert: *P. falciparum* onderscheidt zich in termen van complicaties en mortaliteit van de andere species, en vereist een specifieke behandeling met indien nodig ziekenhuisopname. De strategie die vele deelnemers vermelden «identificatie tot op *P. falciparum*/non-falciparum niveau en doorsturen voor species identificatie en confirmatie naar het referentielaboratorium» is in de diagnostische praktijk een correcte en haalbare optie die we aanmoedigen. Samenvattend kwamen groepen I en II, tot een aanvaardbaar resultaat, d.w.z. bijna de helft (82/180, 48.3%) van de antwoorden.

Omwille van het vermelde verschil in klinische ernst en behandeling is het antwoord «*P. falciparum*» (Groep IV, 30.5%) niet als correct te beschouwen. Evenzo is het antwoord «*P. species*» (Groep III, 21.1%) niet correct en interpreteren wij het als een «major error»: dit antwoord laat de twijfel tussen *P. falciparum* en de andere species en kan bovendien de indruk wekken dat het niet om de levensbedreigende *P. falciparum* gaat. Indien de kwaliteit van het staal, een lage parasitemie of een gebrek aan expertise van de laboratoriumstaf niet toelaten met zekerheid de differentiële diagnose «*P. falciparum* - non *P. falciparum* species» te stellen, dan is het meest correcte antwoord naar de clinicus «*Plasmodium spp.*, *P. falciparum* niet uit te sluiten». Uiteraard biedt ook in dit geval het doorsturen van de stalen naar het referentielaboratorium (Instituut voor Tropische Geneeskunde) uitkomst.

Staal P/7875, *Plasmodium malariae*.

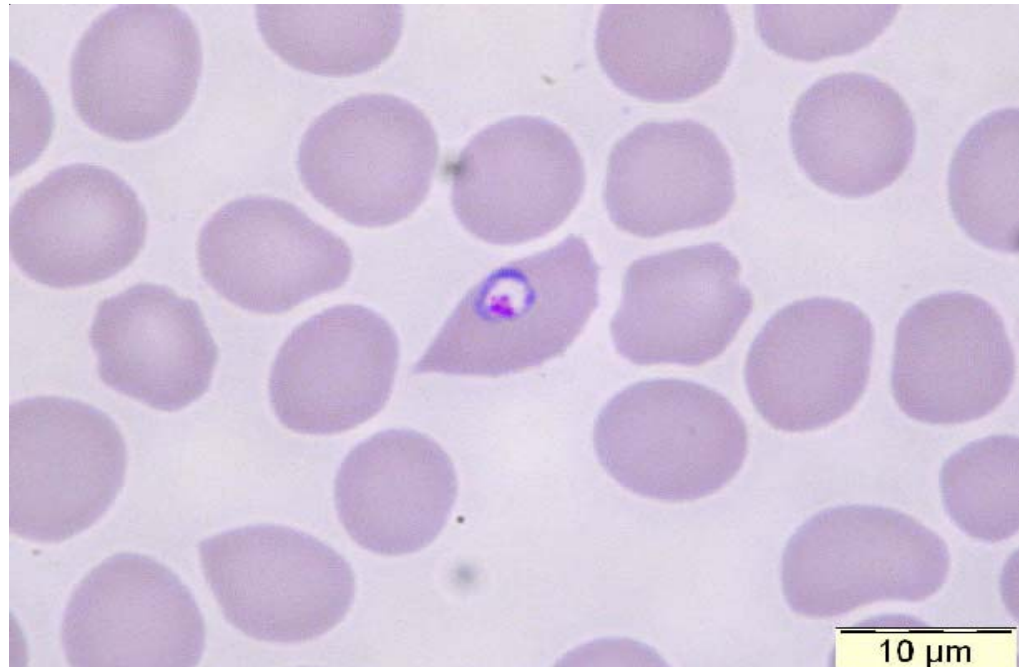
Indien we terug het «best case scenario» bekijken en dus de mogelijk fout gecodeerde antwoorden (*Pentatrachomonas* maar ook *Leishmania* spp...) buiten beschouwing laten komen we tot 182 antwoorden. De 4 groepen verhouden zich als volgt:

Groep, aantal en % van totaal aantal antwoorden	Antwoord	Commentaar
Groep I, n = 81 (45.0%)	<i>P. malariae</i>	Correct
Groep II, n = 38 (21.0%)	<i>P. non-falciparum</i> (17), <i>P. vivax</i> (10), <i>P. ovale</i> (11)	«Minor error» Aanvaardbaar
Groep III n = 37 (20,6%)	<i>P. species</i> (n = 38)	Major error
Groep IV n = 26 (14,4%)	<i>P. falciparum</i> (n = 25) <i>P. falciparum</i> mengsel (n = 1)	Major error

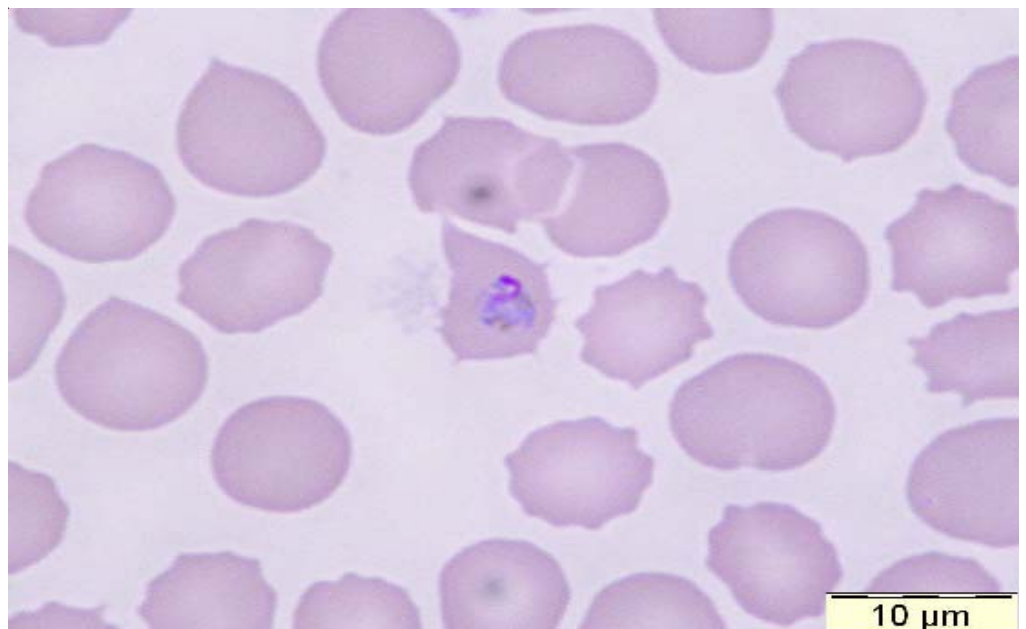
Erg bemoedigend is dat bijna 2/3 van de antwoorden diagnostisch correct zijn (119/182, 65,3%, Groepen I en II). Voor groep III herhalen we de suggestie voor een correct antwoord in geval van onmogelijkheid van species identificatie: «*Plasmodium* spp., *P. falciparum* niet uit te sluiten»).

**Welke sleutels waren er voor de correcte species identificatie?**

Een gedetailleerde beschrijving van de morfologie van de 4 Plasmodium-species kan in referentiewerken teruggevonden worden en werd ook in het rapport 2003/2 samengevat. Het is interessant door de foto's te lopen die Marc Lontie (MCH, Leuven) ons ter beschikking stelde (waarvoor onze dank!):

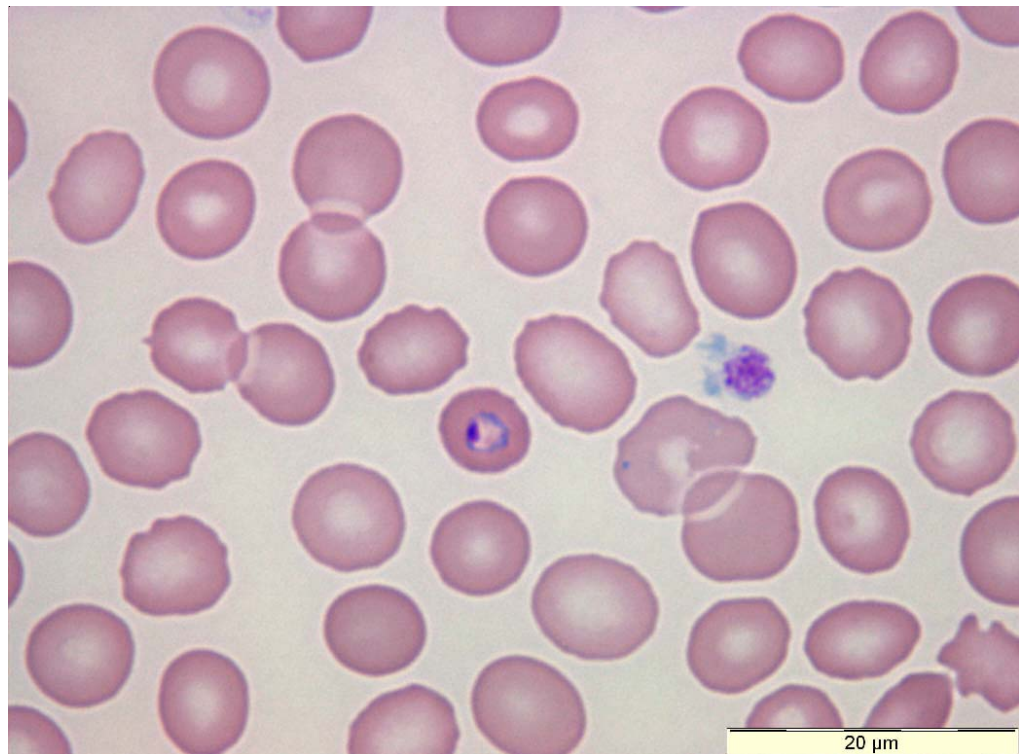


Figuur 1 Staal P/7870, *Plasmodium ovale*. Trofozoïet in rode bloedcel. De rode bloedcel is iets vergroot (jonge rode bloedcel), heeft wat getande boorden en een langwerpige («ovale») vorm. De Schüffnerse stippeling is beter te zien bij hogere pH en ontbreekt hier.

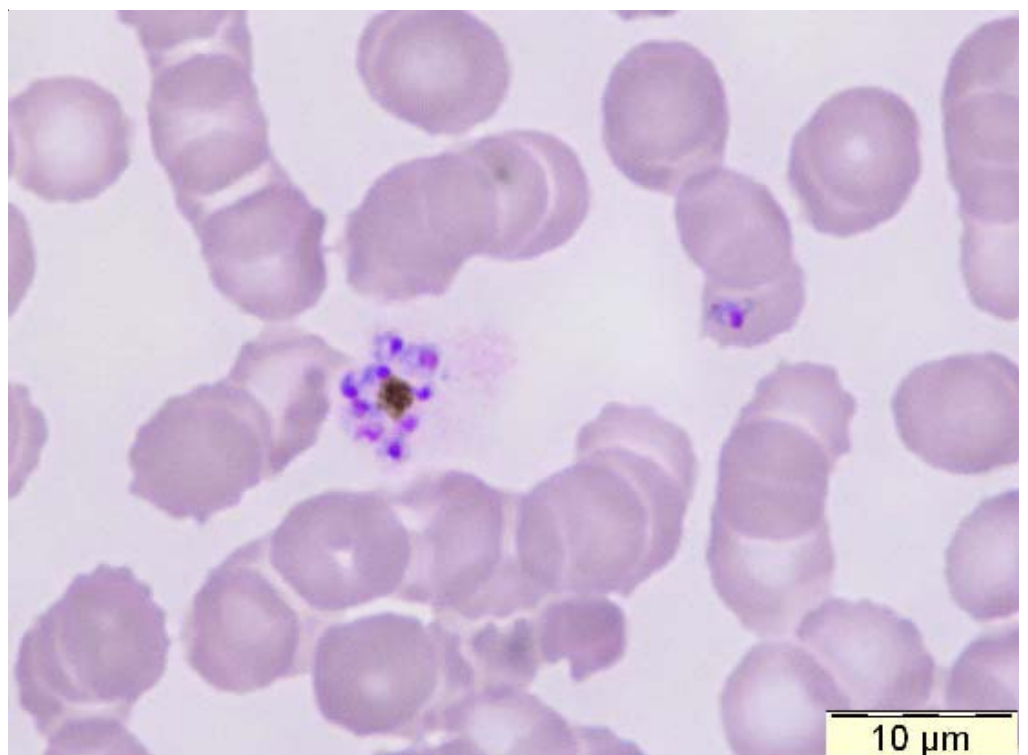


Figuur 2 Staal P/7870, *Plasmodium ovale*. Rijpe trofozoïet.

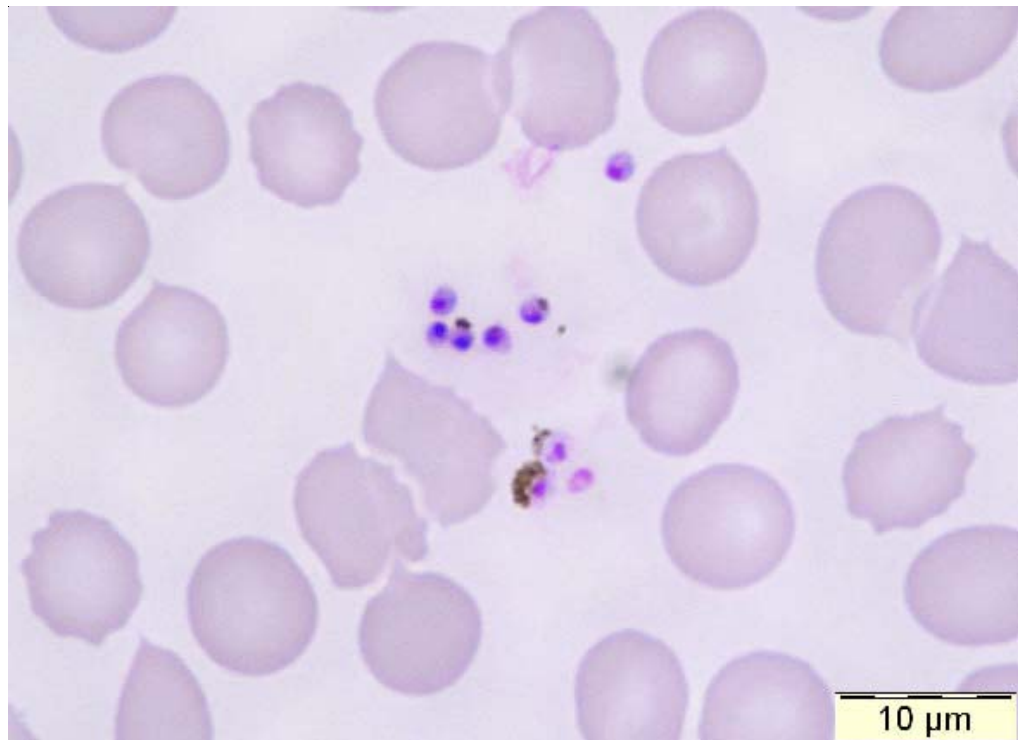




Figuur 3: Staal P/7875, *P. malariae*, de trofozoïet kan tot 2/3 van de diameter van een rode bloedcel meten, trofozoïeten zijn in het algemeen groter dan bij *P. falciparum*. De rode bloedcel is niet vergroot, de cel is zelfs iets kleiner dan de andere rode bloedcellen (*P. malariae* infecteert bij voorkeur kleinere (= oudere) rode bloedcellen, vandaar ook de lage parasitemie (cfr. infra)).



Figuur 4: Staal P/7875, *P. malariae*: schizont met 8 merozoïeten en opvallend «dot» pigment (links), trofozoïet (rechts). Aanwezigheid van schizonten bij *P. falciparum* in het perifeer bloed is uitzonderlijk (schizogonie grijpt plaats in de orgaancapillairen).



Figuur 5: Staal P/7875, *P. malariae*: schizont die uiteenvalt in merozoïeten (8 merozoïeten zijn te herkennen).

Naast de morfologische criteria waren er ook sleutels in de reisgeschiedenis van de 2 patiënten:

- Staal P/7870: Ghana: reisbestemmingen in West-Afrika of Sub-Saharisch Afrika maken de mogelijkheid van infectie met *P. vivax* onwaarschijnlijk.
- Staal P/7875: Ivoorkust: de mogelijkheid van *P. vivax* is erg onwaarschijnlijk. Een malaria-aanval die optreedt meer dan 6 maanden na verblijf in endemisch gebied is waarschijnlijk geen *P. falciparum* (hoewel niet uitgesloten!). Mensen - zoals deze patiënte - die in endemisch gebied leven (leefden) bouwen een semi-immuniteit op die echter verdwijnt over een periode van 6 maanden tot 2 jaar wanneer zij niet meer in contact zijn met de parasiet, zoals bij een verblijf in Europa. Malaria-aanvallen door *P. vivax/P. ovale* en door *P. malariae* kunnen nog (indien geen specifieke therapie gegeven is) tot ongeveer 4 jaar respectievelijk tot levenslang na verblijf in endemisch gebied optreden.



### 5.3.2 Commentaar op de bepaling van het aantal parasieten of geparasiteerde rode bloedcellen.

De cijfers van de tellingen van de parasieten bij stalen P/7870 en P/7875 leerden ons dat er een vrij grote spreiding in resultaten is.

Het aantal parasieten bij infectie met *Plasmodium* spp. kan uitgedrukt worden als

- aantal parasieten per  $\mu\text{l}$
- percentage geïnfecteerde rode bloedcellen

Alleen de asexuele stadia worden geteld (trofozoïeten en schizonten) - niet de gametocyten. Ruwweg geldt: 1% geïnfecteerde rode bloedcellen = 50.000 asexuele stadia/ $\mu\text{l}$ .

Semi-kwantitatieve scores zoals geantwoord (1 à 2, veel...) zijn te vermijden.

Een telling (of schatting) van het aantal geïnfecteerde rode bloedcellen (parasitemie) of het aantal parasieten maakt deel uit van een analyse naar malaria:

- het geeft een idee over de klinische ernst en de kans op complicaties
- het is een maat om het beantwoorden aan de therapie op te volgen

Correcte schatting van de parasitemie is dus vooral van groot belang bij *P. falciparum*: zo is een parasitemie van  $\geq 1\%$  één van de signalen om de patiënt op te nemen. Anderzijds is zoals bekend de parasitemie ook een hulpmiddel bij de identificatie: waarden van  $\geq 1\%$  en  $\geq 4\%$  zijn slechts zeer uitzonderlijk voor respectievelijk *P. malariae* en *P. vivax/P. ovale*. Voor de situatie in België (reizigersgeneeskunde) is het nut van dit hulpmiddel relatief: de meeste patiënten vertonen bij consultatie of opname een lage parasitemie. Van de stalen met *P. falciparum* onderzocht in het Instituut Tropische Geneeskunde gedurende 2003 - 2005 (n = 300) waren er 57.2% met een parasitemie lager dan 0.1%.

Een uitdrukking van de parasitemie als % geïnfecteerde rode bloedcellen is wellicht de meest gangbare in het klinisch gebruik, en ligt ook voor de hand wanneer een uitstrijkje beoordeeld wordt. Wij vermelden de procedure (Box 1) die mogelijk hulp biedt bij de bepaling van de parasitemie:

**Methode voor het bepalen van de parasitemie, uitgedrukt als % geïnfecteerde rode bloedcellen, vanuit uitstrijkje.**

1. Zoek een gebied in het uitstrijkje waarbij de rode bloedcellen (RBC) tegen elkaar aan liggen zonder elkaar te overlappen (vergroting 10 × 100).
2. Tel de RBC in 3 opeenvolgende velden in dezelfde breedte en bepaal het gemiddeld aantal RBC - dit ligt meestal tussen de 150 en 300.
3. Tel in minstens 25 opeenvolgende velden het aantal geïnfecteerde RBC.
  - een RBC met > 1 trofozoïet telt voor 1 geïnfecteerde RBC
  - gametocyten worden niet meegeteld
  - extracellulaire vormen (bv. merozoïeten) worden niet meegeteld
4. Bereken de parasitemie als % geïnfecteerde RBC aldus:

$$\frac{\text{Totaal aantal geïnfecteerde RBC op } 25^* \text{ velden}}{\text{Gemiddeld aantal RBC/veld} \times 25^* \text{ velden}} \times 100 = \% \text{ parasitemie}$$

\* of meer

**5. Opmerking**

- cijfers lager dan 0.1% kunnen als « < 0.1% » doorgegeven worden.

### 5.3.3. *Plasmodium malariae* met hoge parasitemie: denk aan *Plasmodium knowlesi*.

De rondzending van *Plasmodium malariae* geeft ons de gelegenheid om de aandacht te trekken op *Plasmodium knowlesi*, een zoönotische Plasmodium-species die tot nu toe uitzonderlijk bij mensen beschreven werd. Recent onderzoek bracht aan het licht dat de species frequenter voorkomt dan gedacht, en *P. knowlesi* wordt dan ook als «vijfde» species voorgesteld.

*Plasmodium knowlesi* heeft als gastheer primaten zoals Rhesusapen en bavianen en wordt overgedragen door een specifieke mug die zich bij voorkeur in of aan de rand van wouden ophoudt. Ondanks die beperkingen heeft *P. knowlesi* succesvol een «zijsprong» naar de mens kunnen maken. De mogelijkheid van mens-mug-mens transmissie wordt bestudeerd maar is niet uitgesloten.

De species is in alle stadia morfologisch niet te onderscheiden van *P. malariae*. Er zijn echter belangrijke verschillen in pathologie en kliniek tussen beide species: de rode bloedcel-cyclus van *P. knowlesi* bedraagt 24 uur (*P. malariae*: 72u) en de parasitemie kan erg hoog oplopen (tot meer dan 10%; bij *P. malariae* is de parasitemie steeds lager dan 1%). Hierdoor is de ook de klinische presentatie verschillend, met dagelijkse koortspieken en snelle verergering van de symptomen bij *P. knowlesi*. Infectie met *P. knowlesi* kan ook dodelijk verlopen.

Infecties met *P. knowlesi* werden tot nu hoofdzakelijk beschreven in Maleisië (vooral in Borneo). Enkele gevallen zijn in Thailand en Myanmar gesignaleerd. Voor een recent overzicht (inclusief microscopische beelden) loont het de moeite referentie 5 te lezen.

### 5.3.4. **Besluit**

Over het algemeen zijn de antwoorden op deze 2 casussen bevredigend. Species differentiatie tussen *P. falciparum* - non- *P. falciparum* is cruciaal en wordt door een meerderheid van de deelnemers toegepast. Bepaling van de parasitemie is een essentieel onderdeel van het onderzoek naar malaria, en een procedure voor gestandaardiseerde bepaling wordt vermeld. Het referentie laboratorium (Instituut Tropische Geneeskunde) moedigt het toesturen van stalen als onderdeel van confirmatie en species identificatie aan: voor PCR controle en evaluatie van antigen testen vragen we hierbij ook om een buisje EDTA-bloed toe te sturen.

Jan Jacobs December 2007

## REFERENTIES

1. Collins ZE and Jeffery GM. *Plasmodium malariae*: parasite and disease. *Clin Microbiol. Rev.* 2007; 20:579-592.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory identification of parasites of public health concern. <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/>
3. Garcia LS. *Diagnostic Medical Parasitology* 4<sup>th</sup> ed., 2001. ASM Press, Washington DC.
4. Bottieau E, Clerinx J, Van Den Enden E, Van Esbroeck M, Colebunders R, Van Gompel A, Van Den Ende J. Imported non-*Plasmodium falciparum* malaria: a five-year prospective study in a European referral center. *Am J Trop Med Hyg.* 2006; 75):133-8
5. Cox-Singh J, Davis TME, Lee KS, Shamsul SSG, Matusop A, Ratnam S, Rahman HA, Conway DJ, and Singk N. *Plasmodium knowlesi* malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. *C.I.D.*, 2008; 46: 165-71.

## VI. SEROLOGIE

### 6.1 Beschrijving van de monsters

Er was 1 gelyofiliseerd plasmamonster, S/1875 waarop antistoffen tegen Brucella bepaald dienden te worden.

Het staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

«Koorts van onbekende oorsprong bij een landbouwer met uitgebreide veestapel.»

De verwachte interpretatie was: «Afwezigheid van antistoffen.»

Er waren 2 «klaar-voor-gebruik» stalen voor de bepaling van HIV-antistoffen.

Staal S/6621 was negatief.

Staal S/6978 was positief.

## 6.2 Brucella

### 6.2.1 De deelnemers

In het totaal stuurden 95 laboratoria hun enquêteformulier terug. Ze voerden 132 testen uit op staal S/1875.

64 laboratoria voerden 1 test uit, 25 laboratoria voerden 2 testen uit en 6 laboratoria 3 testen.

In 74 testen bepaalde men de totale antistoffen, in 3 de specifieke IgG en in 3 de specifieke IgM; er werden 45 Rose Bengale testen en 7 Wright testen uitgevoerd. Voor de aard van de antistoffen die bij deze 2 laatste testen bepaald worden, waarover nogal wat verwarring blijkt te bestaan, verwijzen wij naar het commentaar.

Tabel 6.2.1. geeft een overzicht van de combinaties van de uitgevoerde testen. Het *Brucella* species waartegen de totale antistoffen opgespoord werden, wordt weergegeven in tabel 6.2.2.

Tabel 6.2.1. Overzicht van de combinaties van testen gebruikt voor de bepaling van anti-*Brucella* antistoffen

Aantal testen	Type test	Aantal laboratoria
1 test uitgevoerd	Rose Bengale	35
	Totale antistoffen	25
	Wright	4
2 testen uitgevoerd	2 x totale antistoffen	19
	Rose Bengale en Wright	3
	Rose Bengale en totale antistoffen	2
	IgG en IgM	1
3 testen uitgevoerd	Rose Bengale en 2 x totale antistoffen	4
	Rose Bengale en IgG en IgM	1
	Totale antistoffen en IgG en IgM	1
Totaal		95

Tabel 6.2.2. *Brucella* species waartegen de totale antistoffen opgespoord werden

Aantal testen voor totale AS	<i>Brucella</i> species	Aantal laboratoria
1 test uitgevoerd	<i>B. abortus</i>	22
	<i>B. melitensis</i>	2
	Complement fixatietest	2
	Niet gepreciseerd	2
2 testen uitgevoerd	<i>B. abortus</i> en <i>B. melitensis</i>	23
Totaal		51

## 6.2.2 Gebruikte reagentia

Volgende tabellen geven in aantal weer welke reagentia door de deelnemers gebruikt werden:

Tabel 6.2.3. Reagentia gebruikt voor de bepaling van totale anti-Brucella antistoffen

Fabrikant	Kit	S/1875
Becton Dickinson	<i>B. abortus</i> antigen (slide), febrile screening	1
	Difco febrile antigen test	1
BioSystems	Febrile serodiagnostic agglutination test	6
Biotrading	Niet gepreciseerd	1
Cypress Diagnostics	<i>Brucella Abortus</i> bacterial antigens for slide and tube agglutination	1
Diamondial (verdelers Biotrading)	Stained Febrile Ag <i>Brucella abortus</i>	9
	Stained Febrile Ag <i>Brucella melitensis</i>	3
Immunostics (verdelers BMD)	<i>Brucella abortus</i> Febrile Antigen	2
Omega (verdelers Alphadia)	Micropath <i>Brucella abortus</i>	1
	Micropath <i>Brucella melitensis</i>	2
Plasmatec	<i>B. abortus</i> stained febrile antigens	1
	<i>B. melitensis</i> stained febrile antigens	1
Remel (verdelers Oxoid)	Stained Suspension <i>Brucella abortus</i> SS14	22
	Stained Suspension <i>Brucella melitensis</i> SS15	18
Virion	<i>Brucella</i> CFT reagens	2
Niet gepreciseerd	Agglutinatie <i>B. abortus</i>	1
	Agglutinatie <i>B. melitensis</i>	1
	Niet gepreciseerd	1
<b>Totaal</b>		<b>74</b>

Tabel 6.2.4. Reagentia gebruikt voor de bepaling van IgG anti-Brucella antistoffen

Fabrikant	Kit	S/1875
bioMérieux	Fluoline G	1
Home made	Home made op basis van Virion Ag	1
Viricell (verdelers Alphadia)	IgG Elisa	1
<b>Totaal</b>		<b>3</b>

Tabel 6.2.5. Reagentia gebruikt voor de bepaling van IgM anti-Brucella antistoffen

Fabrikant	Kit	S/1875
bioMérieux	Fluline M	1
Home made	Home made op basis van Virion Ag	1
Vircell (verdelers Alphadia)	IgM Elisa	1
Totaal		3

Tabel 6.2.6. Reagentia gebruikt voor de bepaling van de Rose Bengale test

Fabrikant	Kit	S/1875
bioMérieux	Antigen Rose Bengale	2
Biorad	Brucella Rose Bengal	38
BioSystems	Rose Bengal	5
Totaal		45

Tabel 6.2.7. Reagentia gebruikt voor de bepaling van de Wright test

Fabrikant	Kit	S/1875
Biorad	Brucella Wright	7
Totaal		7



## 6.2.3 Resultaten

### 6.2.3.1 Overzicht van de resultaten

De resultaten voor de totale antistoffen worden in volgende tabel weergegeven.

Tabel 6.2.8. Resultaten van de testen voor de totale AS van staal S/1875

Resultaten	Aantal
Negatief	47
Borderline	2
Positief	2
Totaal	51

Alle laboratoria die 2 kits voor totale AS gebruiken bekwamen met beide kits eenzelfde resultaat (voor 22 laboratoria was dit 2 maal een negatief resultaat; voor 1 laboratorium waren het 2 borderline resultaten).

De antwoorden «positief» werden gegeven door 1 laboratorium dat enkel de totale AS bepaalde en 1 laboratorium dat ook de Rose Bengale test bepaalde (en deze eveneens positief vond).

De IgG werden door 2 laboratoria positief gevonden en door 1 laboratorium negatief. De 3 laboratoria die de IgM bepaalden bekwamen allen een negatief resultaat.

De resultaten bekomen met de Rose Bengale test worden in volgende tabel weergegeven.

Tabel 6.2.9. Resultaten van de Rose Bengale test op staal S/1875

Resultaten	Aantal
Positief	20
Negatief	19
Borderline	6
Totaal	45

19 van de vals positieve resultaten en 5 van de borderline resultaten werden bekomen met de Rose Bengale kit van de firma Biorad. De firma werd hierover gecontacteerd en onderzoekt momenteel deze stalen. U vindt hieronder het besluit van hun onderzoek:

«Wright en Rose Bengale zijn twee verschillende technieken met verschillende antigenen als oorsprong.

Wij bekwamen met dit serum zeer zwak positieve resultaten met beide technieken.

Wegens de verschillende oorsprong van de antigenen en de positieve resultaten met de 2 technieken kunnen wij aannemen dat een eventueel probleem met dit serum het gevolg kan zijn van de lyofilisatie en de daaropvolgende rehydratatie die in sommige gevallen een beeld van « aggregaten » kan geven dat verward kan worden met een zwak positieve reactie.

Dit resultaat stelt in geen geval de kwaliteit van onze producten in vraag.»

De resultaten bekomen met de Wright test worden in volgende tabel weergegeven.

Tabel 6.2.10. Resultaten van de Wright test op staal S/1875

Resultaten	Aantal
Negatief	4
Borderline	2
Positief	1
Totaal	7

### 6.2.3.2 Overzicht van de interpretaties

94 laboratoria gaven een interpretatie. Eén laboratorium liet de interpretatie open. Een overzicht van deze interpretaties wordt in volgende tabel weergegeven:

Tabel 6.2.11. Interpretaties voor staal S/1875

Interpretatie	Aantal
Afwezigheid van antistoffen	61
Aanwezigheid van antistoffen, suggestief voor een infectie	24
Afwezigheid van IgM antistoffen. Nieuwe afname noodzakelijk na 1-2 weken <sup>1</sup>	1
Afwezigheid van IgM antistoffen wijst er op dat er geen acute infectie is. Een subacute of chronische infectie is niet uitgesloten. Nieuwe afname noodzakelijk na 3 weken <sup>2</sup>	1
Afwezigheid van antistoffen tegen <i>Brucella abortus</i> (indien kliniek suggestief is: verder onderzoek nodig voor <i>B. melitensis</i> ). Nieuwe afname noodzakelijk na 1 week <sup>3</sup>	1
Onduidelijke agglutinatie; mogelijk interferentie. Bevestiging nodig (Wright) <sup>4</sup>	1
Grens positiviteit (50 µl: negatief bij 20 µl); hemocultuur + opsporen van IgM (CODA) + serologische follow-up (15 dagen) noodzakelijk <sup>4</sup>	1
Aanwezigheid van IgM? IgG? Beide? Complementaire testen voor IgG en IgM noodzakelijk <sup>5</sup>	1
Twijfelachtig resultaat van de Wright test. Controle na 1 week en vooral hemocultuur noodzakelijk <sup>6</sup>	1
Titer is te laag om significant te zijn. Nieuwe afname na 3 weken noodzakelijk <sup>7</sup>	1
Zwakke titer, op te volgen, kruisinfectie met andere agentia uitsluiten. Complementaire testen ( <i>Yersinia</i> serologie) en nieuwe afname na 4 weken noodzakelijk <sup>8</sup>	1
<b>Totaal</b>	<b>94</b>

<sup>1</sup> Antwoord gegeven door een laboratorium dat enkel de Wright test uitvoerde (met als resultaat: «negatief»).

<sup>2</sup> Antwoord gegeven door een laboratorium dat de Rose Bengale (borderline) en de Wright test (negatief) uitvoerde.

<sup>3</sup> Antwoord gegeven door een laboratorium dat enkel de totale AS tegen *B. abortus* (negatief) bepaalde.

<sup>4</sup> Deze beide antwoorden werden gegeven door laboratoria die enkel de Rose Bengale test uitvoerden en een borderline resultaat bekwamen.

<sup>5</sup> Antwoord gegeven door een laboratorium dat enkel de Rose Bengale test uitvoerde (met als resultaat: «positief»).

<sup>6</sup> Antwoord gegeven door een laboratorium dat de Rose Bengale (negatief) en de Wright test (borderline) uitvoerde.

<sup>7</sup> Antwoord gegeven door een laboratorium dat de totale AS met 2 testen bepaalde en met beide een negatief resultaat bekwam.

<sup>8</sup> Antwoord gegeven door een laboratorium dat de totale AS met 2 testen bepaalde en met beide een borderline resultaat bekwam.

De interpretatie «Aanwezigheid van antistoffen, suggestief voor een infectie» werd gegeven door:

- 22 laboratoria die 1 test uitvoerden
  - o 19 bekwamen een positief resultaat (17 met de Rose Bengale test, 1 met de Wright test en 1 voor de totale AS)
  - o 2 bekwamen een borderline resultaat (1 met de Wright test en 1 voor de totale AS)
- 2 laboratoria die 2 testen uitvoerden
  - o 1 laboratorium bepaalde IgG (positief) en IgM (negatief)
  - o 1 laboratorium voerde de Rose Bengale test uit en bepaalde de totale AS (beide met positief resultaat)
- 1 laboratorium dat 3 testen uitvoerde: totale AS, IgM (beide negatief) en IgG (positief)

51 laboratoria gaven een opmerking bij het antwoord «Afwezigheid van antistoffen». Een overzicht hiervan wordt gegeven in tabel 6.2.12.

Tabel 6.2.12. Opmerkingen gegeven bij «Afwezigheid van antistoffen» voor staal S/1875

Opmerking	Aantal
Een bevestiging is gewenst door een nieuwe afname	22
Een bevestiging is niet nodig	19
Een bevestiging is gewenst door complementaire testen	6
Een bevestiging is gewenst door complementaire testen en een nieuwe afname	3
Controle noodzakelijk als de koorts persisteert want er is geen diagnose gesteld	1
<b>Totaal</b>	<b>51</b>

Een overzicht van de voorgestelde complementaire testen wordt gegeven in tabel 6.2.13.

Tabel 6.2.13. Complementaire testen voorgesteld bij «Afwezigheid van antistoffen» voor staal S/1875

Voorgestelde test	Aantal
Hemocultuur	3
Specifieke IgM	1
Wright	1
Test die <i>B. abortus</i> omvat	1
Opsporen van blokkerende AS (Coombs)	1
Agglutinatie door Immunocapture	1
Niet gepreciseerd	1
<b>Totaal</b>	<b>9</b>

Antwoorden die specifieke IgM, Wright of *B. abortus* omvatten werden uiteraard gegeven door laboratoria die deze testen niet uitvoeren.

Een overzicht van de voorgestelde tijdsintervallen voor een nieuwe afname wordt gegeven in tabel 6.2.14.

Tabel 6.2.14. Tijdsintervallen voor een nieuwe afname voorgesteld bij «Afwezigheid van antistoffen» voor staal S/1875

Tijdsduur interval	Aantal
2 weken	10
2 - 3 weken	2
3 weken	6
3 - 4 weken	2
4 weken	3
Niet gepreciseerd	2
Totaal	25

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

Deze interlaboratoriumtest heeft aangetoond dat de deelnemende laboratoria een grote diversiteit aan testen gebruiken voor de diagnose van brucellose. We hebben eveneens een grote diversiteit aan diagnostische interpretaties vastgesteld. Gezien deze vaststellingen, leek het ons nuttig om u aan de basisprincipes van de diagnose van brucellose te herinneren.

De serologische diagnose van brucellose is gebaseerd op ELISA-testen, trage (Wright test) of snelle (Rose Bengale test) agglutinatietesten of andere testen (Fluorescentie Polarisatie Test, complementfixatie, enz.) die gebruik maken van een gladde stam van *Brucella* (die een LPS O-keten bevat) als antigen, in de praktijk betreft het *Brucella melitensis* of *Brucella abortus*. Deze verschillende testen laten toe om elke infectie door een *Brucella* van het gladde type te diagnostiseren, d.w.z. voornamelijk de species *B. abortus*, *B. melitensis* en *B. suis*. Deze diagnostiek moet geïnterpreteerd worden op basis van de kinetiek van het verschijnen/verdwijnen van de IgG/IgM antistoffen in de loop van de infectie en het vermogen van de verschillende testen om de aanwezigheid van deze antistoffen op te sporen. Na een incubatietijd die kan variëren van enkele dagen tot twee maanden (en soms meer), wordt het optreden van de klinische symptomen (acute brucellose) vergezeld door een hoge titer IgM en IgG antistoffen. De IgG zullen gedurende meerdere jaren na de infectie persisteren terwijl de IgM progressief zullen verdwijnen. Een acute *Brucella*-infectie zal dus gekenmerkt zijn door een hoge titer van beide antistoffen terwijl een chronische infectie vooral door de aanwezigheid van IgG gekenmerkt zal zijn en weinig tot geen detecteerbare IgM zal vertonen.

De trage agglutinatietest van Wright detecteert IgM en geen of bijna geen IgG, in tegenstelling tot de Coombs test die toelaat de IgG aan te tonen. De Rose Bengale test laat toe de totale antistoffen aan te tonen (maar vooral de IgG) en de ELISA testen kunnen IgG of IgM detecteren afhankelijk van het gebruikte conjugaat. De complement fixatietest (CFT) bepaalt voornamelijk de specifieke IgG. Naast hun capaciteit om al dan niet bepaalde klassen van antistoffen (IgG of IgM) te bepalen, hebben de testen die voor de diagnose van brucellose gebruikt worden een wisselende gevoeligheid. Van de agglutinatietesten is de Rose Bengale test gevoeliger dan de Wright test en de ELISA is gevoeliger dan de CFT. Als besluit, kunnen we stellen dat voor de diagnose van humane brucellose de Rose Bengale en ELISA testen het best geschikt zijn om de acute en chronische infecties met een goede gevoeligheid te diagnostiseren. De diagnose van acute brucellose wordt vergemakkelijkt door de hoge concentratie aan antistoffen die in dit stadium van de ziekte voorkomt, terwijl de diagnose van chronische brucellose moeilijker is door de soms lage concentratie aan antistoffen, die met bepaalde serologische technieken dus niet gedetecteerd kunnen worden. Wij raden dus de ELISA IgG test aan voor de diagnose van chronische brucellosen.

In geval van een positief resultaat met een agglutinatietest, is het een goed advies om hetzelfde staal met een ELISA te testen. Indien deze negatief blijkt te zijn, besluiten wij tot een vals positieve agglutinatietest; als hij positief is raden wij aan een hemocultuur af te nemen. Een tweede staalname is enkel gewettigd in geval van de diagnose van een acute brucellose. Een tweede staalname 2 à 3 weken na de eerste zou dan de definitieve diagnose moeten leveren.

Een positieve serologie voor *Yersinia enterocolitica* 0:9 is nuttig om de oorzaak van een vals positieve reactie op te sporen maar laat in geen geval toe om een *Brucella*-infectie uit te sluiten (het is een epidemiologisch hulpmiddel).

Het staal dat in deze EKE verstuurd werd, werd door het referentiecentrum (CODA-CERVA) gecontroleerd met de Rose Bengale test, de trage agglutinatie test van Wright, ELISA en CFT. Er werd geen enkel positief resultaat bekomen. Verschillende laboratoria hebben desalniettemin dit staal als positief of borderline geklasseerd. Het is onmogelijk om op basis van deze resultaten conclusies te trekken gezien er slechts 1 staal verstuurd werd; gezien de diversiteit van de ingestuurde antwoorden is het echter mogelijk dat het staal agglutinines of antistoffen bevatte die kruisreacties vertoonden met sommige antigenen. Er wordt momenteel een confirmatietest op dit serum uitgevoerd door het WHO centrum voor brucellose (VLA-Weybridge). Dit probleem illustreert eveneens de noodzaak om over internationaal referentiemateriaal te kunnen beschikken om de diagnose van deze infectie bij de mens te standaardiseren.

Karl Walravens, Department of Bacteriology and Immunology, Veterinary and Agrochemical Research Centre, CODA CERVA, Ukkel

## 6.3 HIV

### 6.3.1 De deelnemers

In het totaal stuurden 181 laboratoria hun antwoordformulier terug. Een aantal laboratoria voerden 2 screeningstesten uit per staal. Onderstaande tabel geeft het aantal uitgevoerde screeningstesten per staal weer.

Tabel 6.3.1. Screeningstesten uitgevoerd voor de bepaling van HIV

Staal	1 test	2 testen	Totaal
S/6621 (N labo's)	158	23	181
S/66978 (N labo's)	154	27	181

Er werden dus 204 screeningstesten uitgevoerd op staal S/6621 en 208 op staal S/6978.

Daarnaast vermelden 13 deelnemers het resultaat van de Ag p24 test die zij bekwamen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit (die anti-HIV As en Ag p24 tegelijkertijd bepaalt) voor beide stalen. Eén laboratorium voerde de GENELABS HIV 2.2 BLOT uit.

Tevens hebben op staal S/6978 drie laboratoria het p24 Ag bepaald met de VIDAS HIV p24 II kit en hebben 2 laboratoria een confirmatietest uitgevoerd met de GENELABS HIV 2.2 BLOT en 2 laboratoria met de InnoLIA HIV Confirmation.

### 6.3.2 Gebruikte reagentia

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

Tabel 6.3.2. Reagentia gebruikt voor de screeningstesten voor de bepaling van HIV.

Fabrikant	Reagens	S/6621	S/6978
Abbott	AxSYM HIV Ag/Ab Combo	50	50
	Architect HIV Ag/Ab Combo	23	23
	AxSYM HIV-1/2gO	13	13
	IMx HIV-1/HIV-2 III PLUS	2	2
	Murex HIV Ag/Ab	2	2
	Murex HIV-1.2.0.	1	1
	DETERMINE HIV 1/2	1	1
	PRISM HIV O Plus	1	1
bioMérieux	VIDAS HIV DUO ULTRA	24	28
	VIDAS HIV DUO QUICK	12	12
	Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab	3	3
	Niet gepreciseerd		1
BioRad	Access HIV 1/2 New op UniceI DxI 800 <sup>1</sup>	12	12
	Access HIV 1/2 New op Access <sup>1</sup>	11	10
	Niet gepreciseerd	1	1
Biotest	Anti-HIV Tetra Elisa	4	4
Behring	Enzygnost HIV Integral II	3	3
	Enzygnost anti-HIV 1/2 PLUS	1	1
Ortho Diagnostics	VITROS Immunodiagnostic Products anti HIV 1+2	12	12
Roche	HIV Combi	11	11
	Cobas Core anti-HIV 1/2	1	1
Bayer	ADVIA Centaur EHIV	16	16
	Totaal	204	208

<sup>1</sup> De Access HIV 1/2 New kit wordt geproduceerd door de firma BioRad; de bepalingen met deze kit gebeuren op toestellen geproduceerd door de firma Analis.



### 6.3.3 Resultaten

#### 6.3.3.1 Staal S/6621

Een overzicht van de resultaten per laboratorium wordt gegeven in tabel 6.3.3.

Tabel 6.3.3. Resultaten der laboratoria voor de screeningstesten voor de bepaling van HIV op staal S/6621

Resultaten	Aantal laboratoria
Negatief <sup>1</sup>	172
Positief	4
Positief / negatief <sup>2</sup>	3
Borderline / negatief <sup>3</sup>	1
Borderline	1
Totaal	181

<sup>1</sup> 19 van deze laboratoria bekwamen met 2 gebruikte technieken een negatief resultaat.

<sup>2</sup> 3 laboratoria bekwamen een negatief resultaat met één screeningstechniek en een positief met een andere techniek.

<sup>3</sup> 1 laboratorium bekwam een negatief resultaat met één screeningstechniek en een borderline met een andere techniek

Een kwantitatieve beoordeling van deze resultaten werd niet uitgevoerd, gezien het beperkte belang hiervan bij een negatief staal.

De negen «niet-negatieve» resultaten (7 positieve en 2 borderline) werden allen bekomen met de AxSYM HIV-1/2g O kit (9/13 resultaten van de gebruikers van deze kit; de overige 4 gebruikers antwoordden «negatief»). De firma Abbott werd hieromtrent gecontacteerd. Uit hun onderzoek (uitgevoerd in de Verenigde Staten) bleek dat zij het vals niet-negatieve resultaat niet konden nabootsen. Zij merkten echter wel op dat het staal een lichte troebeling vertoonde die verdween na centrifugeren, zoals voorgeschreven in de bijsluiters. Zij geven dan ook volgende aanbeveling:

«According to the Package Insert, if after initial separation, specimens contain clots, red blood cells or particulate matter, they must be clarified by centrifugation of at least 10,000 x g for ten minutes prior to testing to avoid inconsistent results. In addition, each specimen that requires repeat testing or that has been frozen and thawed must be transferred to a centrifuge tube and centrifuged at a Relative Centrifugal Force (RCF) of at least 10,000 x g for ten minutes. Transfer clarified specimen to a sample cup or secondary tube for testing.»

Het is in dit verband zinvol op te merken dat de stalen, welke wij versturen in de EKE HIV, ingevroren bewaard worden tot het moment van verzending. Het lijkt ons verder aangewezen dat de gebruikers van deze kit ook bij routine-stalen rekening houden met deze aanbevelingen.

De resultaten van de Ag p24 test die de laboratoria meedeelden waren allen negatief. Ook het resultaat van de blottest was negatief

Zeven laboratoria zouden het staal in routine doorsturen naar een referentielaboratorium: 6 van de 7 laboratoria die met minstens 1 kit een positief resultaat bekwamen en het laboratorium dat een borderline resultaat bekwam met de enige kit die het gebruikte.

Eén laboratorium dat een positief resultaat bekwam voerde zelf een blottest uit (die negatief was); het laboratorium met een borderline en een negatief resultaat afhankelijk van de gebruikte kit zou het staal niet doorsturen.

### 6.3.3.2 Staal S/6978

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat met de screeningstesten; laboratoria die 2 technieken gebruikten bekwamen een positief resultaat met beide technieken.

Voor de kits met een voldoende aantal gebruikers hebben wij mediaan, minimum en maximum berekend, voor zover de laboratoria een kwantitatief resultaat geantwoord hebben en in dezelfde eenheden gerapporteerd hebben. Deze resultaten worden weergegeven in tabel 6.3.4.

Tabel 6.3.4. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor anti-HIV antistoffen op staal S/6978 voor de meest gebruikte kits

Kit	Aantal labo	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off voor positiviteit
Architect HIV Ag/Ab Combo (index S/CO)	23	131,83	77,51	151,53	≥ 1,0
AxSYM HIV Ag/Ab Combo (index S/CO)	50	10,635	8,63	14,4	≥ 1,0
AxSYM HIV-1/2g O (index S/CO)	12	13,92	10,06	16,7	≥ 1,0
VIDAS HIV DUO QUICK (index)	12	15,96	13,84	17,29	≥ 0,25
VIDAS HIV DUO ULTRA (index)	23	16,07	13,88	19,7	≥ 0,25
Access HIV 1/2 new op Access (index S/CO)	10	150,11	119	162,85	≥ 1,0
Access HIV 1/2 new op Unicel DxI 800 (index S/CO)	12	123,17	93,35	160,85	≥ 1,0
VITROS immunodiagnostic products anti HIV 1+2 (index)	12	54,8	44,8	60,7	≥ 1,0
HIV Combi (index)	9	371,8	328	394	≥ 1,0

Voor de ADVIA Centaur EHIV gaven alle 16 laboratoria het antwoord index >50 (cut-off voor positiviteit: ≥ 1,0).

De laboratoria die het resultaat van de Ag p24 test op de VIDAS HIV DUO ULTRA kit antwoordden, gaven het antwoord «ND» «Not Determined» weer; in tegenstelling tot verleden jaar, blijkt het dat voor de meeste laboratoria duidelijk is dat het antwoord «ND» betekent dat de sterke reactie voor de As de bepaling van het Ag p24 kan belemmeren en een adequate conclusie over Ag p24 onmogelijk is. Voor het laboratorium voor wie dit niet duidelijk was, herhalen wij hier dat dit antwoord niet mag geïnterpreteerd worden als «negatief» maar dat voor het antwoorden van het Ag p24 in dergelijk geval het gebruik van een andere test vereist is (ook al was in dit geval de Ag p24 test wel degelijk negatief, zoals blijkt uit de resultaten van de VIDAS HIV p24 II, mag men op basis van het resultaat «ND» met de VIDAS HIV DUO ULTRA deze conclusie niet trekken).

De resultaten van de VIDAS HIV p24 II waren allen negatief met een waarde < 3 pg/ml.

De resultaten van de GENELABS HIV 2.2 BLOT en de Inno-LIA HIV Confirmation waren allen positief.

177 laboratoria zouden in routine het staal doorsturen naar een Aids Referentie Laboratorium. De 4 (Luxemburgse) laboratoria die dit niet zouden doen, zijn laboratoria die zelf de confirmatietesten uitgevoerd hebben of vermelden zelf ARL te zijn.

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

De screening van HIV-infecties gebeurt klassiek door het opsporen van antistoffen. Gezien elke infectie gevolgd wordt door een levenslange aanwezigheid van het virus, is de aanwezigheid van antistoffen een teken van infectie, behalve bij kinderen tussen 0 en 18 maanden die de antistoffen passief van de moeder gekregen kunnen hebben. Momenteel zouden alle testen in staat moeten zijn om de antistoffen tegen HIV-1 en HIV-2 op te sporen. Dit is het geval voor alle testen die in deze enquête gebruikt zijn. Recentelijk zijn er combinatietesten op de markt gekomen, die gelijktijdig de antistoffen tegen HIV-1 en -2 en het antigen p24 van HIV-1 opsporen. Dit laat toe een snellere diagnose te stellen op het ogenblik dat de patiënt nog geen antistoffen ontwikkeld heeft. Van de 181 deelnemende laboratoria hebben er 59 slechts één test gebruikt die enkel de antistoffen opspoot. Men moet er zich van bewust zijn dat deze testen minder gevoelig zijn voor screening, maar het belang hiervan is afhankelijk van de klinische context waarvoor ze gebruikt worden. Deze testen zijn bijvoorbeeld niet aanvaardbaar voor de selectie van orgaandonoren.

In België hebben de 7 referentielaboratoria onder meer als taak om elk positief of twijfelachtig (borderline) resultaat, bekomen door de diagnostische laboratoria te bevestigen en de statistiek van de HIV-infecties in België op te maken. Uitgebreidere informatie kan teruggevonden worden op <http://www.iph.fgov.be/epidemiologie/EPIEN/AIDSEN/ARLEN/nindex.html>. Een resultaat wordt als positief of twijfelachtig beschouwd als dit resultaat herhaaldelijk bekomen wordt met dezelfde kit. Dit betekent dat elk positief of twijfelachtig resultaat herhaald moet worden met dezelfde test (bij voorkeur in het dubbel), om zeker te zijn van het resultaat. Twee negatieve herhalingstesten wijzen op een negatief resultaat; indien één van de herhalingstesten positief of twijfelachtig is, moet het staal opgestuurd worden voor confirmatie. Het gebruik van een andere kit kan in geen enkel geval beschouwd als een bevestiging.

Het is verheugend vast te stellen dat alle laboratoria het positieve staal aangetoond hebben. Het schijnbare gebrek aan specificiteit voor één kit voor het negatieve staal is wellicht te wijten aan een lichte troebeling van het staal (cfr. antwoord van de firma), maar dit zou geen problemen mogen stellen in de diagnostische context van ons land die een grote toegankelijkheid tot confirmaties aanbiedt.

P. Goubau, Clin. Univ. St-Luc, Brussel, voor de ARL

## VII. VRAGENLIJST VERWERPING NIET-GESCHIKTE STALEN

Ter gelegenheid van deze enquête kregen de Belgische laboratoria eveneens een vragenlijst over de behandeling van niet-geschikte stalen. 165 laboratoria hebben deze vragenlijst beantwoord. Acht laboratoria hebben het antwoordformulier niet terug gestuurd. Hieronder vindt u een overzicht van de antwoorden op de verschillende vragen.

116 laboratoria (70.3%) beschikken over procedures binnen het laboratorium voor het verwerpen van niet-geschikte stalen; 46 (27.9%) beschikken hier niet over; bij 2 laboratoria (1.2%) zijn deze procedures in aanmaak. Eén laboratorium (0.6%) liet het antwoord op deze vraag open.

Vijf laboratoria gaven wel aan dat ze niet voor alle soorten stalen richtlijnen hebben. Eén van de laboratoria die antwoordden niet over richtlijnen te beschikken, vermeldde dat stalen niet verworpen worden doch becommentarieerd; een ander merkte op dat dit onderwerp wel behandeld wordt binnen de verschillende specifieke microbiologische procedures.

75 laboratoria (45.5%) beschikken over procedures naar de aanvragers voor het verwerpen van niet-geschikte stalen; 83 (50.3%) beschikken hier niet over; bij 3 laboratoria (1.8%) zijn deze procedures in aanmaak. Vier laboratoria (2.4%) lieten het antwoord op deze vraag open. Drie laboratoria gaven wel aan dat ze niet voor alle soorten stalen richtlijnen hebben.

Eén van de laboratoria die antwoordde niet over richtlijnen te beschikken, vermeldde dat stalen niet verworpen worden doch becommentarieerd.

Indien we de antwoorden op deze beide vragen vergelijken stellen we vast dat:

- 73 laboratoria (44.2%) beschikken over procedures zowel binnen het laboratorium als voor de aanvragers
- 39 laboratoria (23.6%) beschikken wel over procedures binnen het laboratorium maar niet voor de aanvragers
- 1 laboratorium (0.6%) heeft wel procedures voor de aanvragers maar niet binnen het laboratorium
- 44 laboratoria (26.7%) hebben noch procedures binnen het laboratorium, noch voor de aanvragers
- bij 2 laboratoria (1.2%) zijn beide procedures in aanmaak; 1 laboratorium (0.6%) heeft reeds procedures binnen het laboratorium doch deze voor de aanvragers zijn nog in aanmaak
- 1 laboratorium (0.6%) heeft procedures voor de aanvragers maar gaf geen antwoord op de vraag over procedures binnen het laboratorium; 3 laboratoria (1.8%) hebben procedures binnen het laboratorium maar gaven geen antwoord op de vraag over procedures voor de aanvragers; en 1 laboratorium (0.6%) heeft geen procedures binnen het laboratorium en gaf geen antwoord op de vraag over procedures voor de aanvragers.

74 van de 75 laboratoria die richtlijnen voor de aanvragers hebben, hebben vermeld onder welke vorm deze beschikbaar zijn:

- 12 laboratoria (16.2%): elektronisch
- 17 laboratoria (23.0%): op papier
- 41 laboratoria (55.4%): beide (elektronisch en op papier)
- 1 laboratorium (1.3%): beide + telefonisch
- 1 laboratorium (1.3%): telefonisch
- 1 laboratorium (1.3%): via e-mail
- 1 laboratorium (1.3%): problemen worden geval per geval opgelost door de bioloog

Zelfs als er geen formele procedures bestaan voor het verwerpen van niet-geschikte stalen, blijken de meeste laboratoria toch (sommige) niet-geschikte stalen te verwerpen: 157 laboratoria hebben immers een antwoord gegeven op de vraag hoe ze de aanvrager verwittigen in geval een staal verworpen wordt.

- 17 laboratoria (10.8%): telefonisch
- 45 laboratoria (28.7%): schriftelijk op rapport
- 84 laboratoria (53.5%): telefonisch en/of schriftelijk op rapport
- 1 laboratorium (0.6%): telefonisch en/of schriftelijk
- 1 laboratorium (0.6%): telefonisch, schriftelijk en/of schriftelijk op rapport
- 4 laboratoria (2.5%): telefonisch, via e-mail en/of schriftelijk op rapport
- 3 laboratoria (1.9%): telefonisch, via e-mail, schriftelijk en/of schriftelijk op rapport
- 2 laboratoria (1.3%): schriftelijk en/of schriftelijk op rapport

Een aantal laboratoria vermeldt hierbij dat dit niet altijd gebeurt, maar bvb. in speciale omstandigheden (zoals een precieus staal), dat bepaalde wijzen van contactname enkel gebeuren indien andere onmogelijk blijken (bvb. aanvrager telefonisch niet bereikbaar), of dat de wijze van contactname afhankelijk is van de omstandigheden (bvb. telefonisch binnen ziekenhuis, schriftelijk op rapport binnen ziekenhuis en voor ambulante patiënten; telefonisch enkel voor dringende gevallen, anders schriftelijk op rapport; ...)

Indien niet-geschikte stalen toch verwerkt worden, vermelden 149 laboratoria (90.3%) op het rapport dat dit resultaat onder voorbehoud is; 6 (3.6%) vermelden dit niet. Eén laboratorium (0.6%) vermeldt dit enkel voor bronchopulmonaire stalen; een ander (0.6%) vermeldt dit soms. Vier laboratoria (2.4%) hebben deze vraag niet beantwoord. Vier laboratoria (2.4%) hebben vermeld dat deze vraag niet van toepassing was: zij verwerken nooit niet-geschikte stalen.

Een aantal laboratoria (die vermelden het resultaat onder voorbehoud door te geven) gaven de opmerking dat niet-geschikte stalen slechts in uitzonderlijke omstandigheden verwerkt worden.