

WIV
J. Wytsmanstraat, 14
B-1050 BRUSSEL

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

DIENST LABORATORIA VOOR KLINISCHE BIOLOGIE
COMITES VAN DESKUNDIGEN

Globaal Rapport

Externe Kwaliteitsevaluatie voor Analyses Klinische Biologie

Microbiologie/Serologie/Parasitologie

ENQUETE 01/2008

Microbiologie

Aspergillus niger
Haemophilus influenzae
Streptococcus agalactiae
Escherichia coli
Gram kleuring: Gram positieve kokken (*S. pneumoniae*)

Parasitologie

Babesia microti
Negatief

Serologie

EBV
CMV

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website :
http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_nl/rapports_annee.htm

COMITE VAN EXPERTEN VOOR MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE

WIV (secretariaat) : 02/642.55.22 - FAX : 02/642.56.45
(Dr. K. Vernelen) : 02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45
(Coördinator) : e-mail : kris.vernelen@iph.fgov.be
Dr. BODEUS Monique : 02/764.67.31 - FAX : 02/764.69.33
: e-mail : bodeus@mblg.ucl.ac.be
Dr. CLAEYS Geert : 09/240.36.45 – FAX : 09/240.36.59
: e-mail : geert.claeys@ugent.be
Dr. 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

Inhoudsopgave

I.	Algemene bemerkingen	1
II.	Identificaties	2
2.1	Cultuur M/4438 <i>Haemophilus influenzae</i>	2
2.2	Cultuur M/7223 <i>Aspergillus niger</i>	8
2.3	Cultuur M/7828 <i>Streptococcus agalactiae</i>	12
2.4	Cultuur M/4040 <i>Escherichia coli</i>	19
III.	Resultaten van de identificaties	20
IV.	Antibiogram	22
V.	Parasitologie	31
5.1	De monsters	31
5.2	Staal P/8046	32
5.3	Staal P/8060	34
VI.	Serologie	40
6.1	Beschrijving van de monsters	40
6.2	EBV : resultaten	41
6.3	CMV : resultaten	49
6.4	Interpretaties	56
6.5	Commentaar	61
VII.	Theoretische casus	66
7.1	Resultaten	66
7.2	Commentaar	72

I. ALGEMENE BEMERKINGEN

Voor de 1^e evaluatie van het jaar 2008 (enquête 2008/1) werd volgend materiaal verzonden op 14 januari 2008.

1.1. Een klinische en 3 gelyofiliseerde monsters voor identificatie en **1 uitstrijkje** voor Gram kleuring.

Voor 1 monster werden de resultaten van de gevoeligheidstesten gevraagd en voor 1 de bepaling van het β -lactamase.

1.2. Twee uitstrijkjes voor parasitologisch onderzoek.

1.3. Twee plasmamonsters voor de bepaling van EBV en CMV.

AANTAL DEELNEMERS

Het aantal evalueerbare antwoordbulletins bedroeg :

1.	Voor identificatie en antibiogram	: 183
2.	Voor parasitologie	: 182
3.	Voor de serologie	:
	EBV	: 164
	CMV	: 179

Wij danken Marc Lontie, Pierrette Melin en Danielle Swinne voor het ter beschikking stellen van de fotos in dit globaal rapport.

II. IDENTIFICATIES

2.1. Cultuur M/4438 (*Haemophilus influenzae*)

Inleiding en klinisch belang

Infecties veroorzaakt door *Haemophilus influenzae* van groep b zijn zeldzaam geworden in landen met een goede dekking door vaccinatie waar gebruik gemaakt wordt van geconjugeerde vaccins van goede kwaliteit en een optimaal toedieningsschema (1). Desalniettemin blijft *H.influenzae* het frequentst voorkomende species van het genus *Haemophilus* bij de mens en blijft het een belangrijke pathogeen, ongeacht of hij een kapsel (een belangrijke anti-fagocyttaire factor) produceert of niet (de zogenaamde niet typeerbare stammen: NT) (2, 3).

De resistentie tegen antibiotica moet geregeld geëvalueerd worden, meer bepaald de resistentie tegen de β -lactams, tetracyclines, macroliden en ketoliden, oxazolidonen en fluorochinolonen. Deze antibiotica worden inderdaad meestal onder orale vorm empirisch gebruikt bij respiratoire infectie en de β -lactams blijven het sleutelement in de behandeling van invasieve infecties. Het is eveneens belangrijk om nieuwe resistentiemechanismen en hun verspreiding op te sporen. In vele Europese landen, Canada en de VS is sinds 2 decennia de prevalentie van de resistentie tegen ampicilline door productie van β -lactamasen relatief stabiel gebleven, doch met belangrijke verschillen naargelang regio en de site waar de stammen geïsoleerd werden (1, 2). De BLNAR-stammen (β -lactamase negative ampicillin resistent) zijn dragers van mutaties in het *ftsI* gen dat codeert voor het transpeptidase domein van PBP3 (afsplitsing tijdens de synthese van peptidoglycaan) (4). Deze mutaties veroorzaken een daling van de gevoeligheid van PBP3 voor de penicillines en het aantal en het type mutaties zal eveneens deels de MIC-waarde bepalen; de BLPACR (β -lactamase-positieve, amoxicillin/clavulanate-resistent) zijn tegelijkertijd drager van de mutaties in het *ftsI* gen en produceren β -lactamase. Wegens methodologische problemen en geografische verschillen, is de reële frequentie van deze stammen, hoewel ze reeds sinds begin van de jaren 80 gekend zijn, niet geweten. De heterogeniteit van de definities stelt eveneens een probleem. Wanneer we vernemen dat 50% van de Spaanse BLNAR, gedefinieerd door de aanwezigheid van mutaties in het *ftsI* gen, een MIC ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$ hebben voor ampicilline en dat 100% van de stammen met een MIC ≥ 1 $\mu\text{g/ml}$ een gewijzigde PBP3 vertonen, stellen we ons vragen (5). Via deze studie kon een specifieke groep van BLNAR worden aangetoond met sterk verhoogde MIC-waarden voor cefotaxime en cefixime (MIC₉₀ 4 $\mu\text{g/ml}$, daar waar in andere groepen de MIC₉₀ respectievelijk 0,12 $\mu\text{g/ml}$ en 0,25 $\mu\text{g/ml}$ zijn. In deze studie, vormt deze laatste groep 4% van de laatste BLNAR-isolaten (2005-2006), met een meer uitgesproken clonaal karakter dan de andere en is hij beperkt tot specifieke geografische zones, wat een toekomstige verspreiding laat vrezen. De stammen die beschreven werden in Frankrijk (2) en Spanje (3), verschillen sterk van deze beschreven in Japan beschreven en zij vertonen een zeer hoge prevalentie; zonder twijfel verschillen zij van de stammen beschreven in de VS, met een prevalentie $<5\%$. We kunnen de rol van deze stammen tegenwoordig moeilijk als gering beschouwen, al is de kennis naar hun impact in therapiefalen nog beperkt.

Het is dan ook belangrijk dat vanaf nu de microbiologische laboratoria bekwaam zijn om deze kiemen te isoleren en te identificeren alsook op een correcte manier hun antibiotica-gevoeligheid te testen en dat zij kunnen beschikken over de diensten van een nationaal referentiecentrum (1).

Microbiologie en typering

Het genus *Haemophilus* is een kleine Gram negatieve staaf die behoort tot de familie van de *Pasteurellaceae*, afdeling proteobacteria, onderafdeling γ , subgroep 2 (1).

Technieken voor isolatie en fenotypische identificatie

De traditionele culturen gebeuren op vers aangerijkte bodems (chocolade) onder een atmosfeer die 5-10% CO₂ bevat bij 35-37°C. *De fenotypische identificatie* blijft de voorkeursmethode (1).

De identificatie tot op speciesniveau van de stam die verstuurd werd in de 1^e EKE enquête van 2008 (M/4438) en afkomstig uit een ooretter was uitstekend: 98,9% (181/183, 2 vermelden een biotype I en 1,1% laboratoria (2/183) hebben *H. parainfluenzae* geantwoord). Dit is te vergelijken met de resultaten van 2004 en 2001: 2004 (M/4918) 98,6% correcte identificatie (204/207), 2001 (97%).

Typering

De traditionele kapseltypering die uit een immunologische methode bestaat (agglutinatie op draagglasje) is duur en weinig betrouwbaar. Enkel de moleculaire technieken laten toe om de kapseltypes en de NT onderling te differentiëren (1, 6).

Stam M/4438 is een stam van biotype I, die niet serologisch typeerbaar is gezien de aanwezigheid van poly-agglutinatie.

Gevoeligheid aan antibiotica

De productie van β -lactamase, gedetecteerd door de hydrolyse van nitrocefine, is momenteel het belangrijkste resistentiemechanisme bij het therapiefalen van de β -lactams die gevoelig zijn aan hydrolyse door de β -lactamases van *H. influenzae*. TEM-I is de frequentste, ROB-1, die soms gemist wordt door de hydrolyse van nitrocefine is zeldzaam in Europa (7, 8).

Een groot aantal aanbevelingen over de media en de criteria voor de gevoeligheidsbepaling werd reeds gepubliceerd (9). De HTM bodem wordt aanbevolen door de CLSI en het *Haemophilus* referentiecentrum (1, 10, 11). Het antibiogram volgens Kirby-Bauer (DD) wordt uitgevoerd op een verse HTM agar (Beckton Dickinson). Het inoculum moet zorgvuldig aangepast worden tot een McFarland standaard van 0.5 en de bodems moeten 20 tot 24 h geïncubeerd worden op 35°C onder 5% CO₂. De ATCC stammen 49766 (gevoelig) en 49247 BLNAR (β -lactamase negatieve Ampicillin resistent) moeten in parallel getest worden (12). De bepaling van de MIC via agardilutiemethode en vooral via microdilutie in bouillon (HTM) zijn de referentiemethoden die in routine echter moeilijk uit te voeren zijn (10, 11). De populaire E-test alleen laat geen betrouwbare MIC-bepaling toe van de BLNAR en BLPACR (die tegelijkertijd een β -lactamase produceert en drager is van mutaties) (13).

De criteria voor gevoeligheid en resistentie (breakpoints) zijn controversieel. Met uitzondering voor de β -lactamase-productie, zijn de voorgestelde criteria eerder microbiologische criteria, met een groot epidemiologisch belang, dan klinische criteria, met onmiddellijke bruikbaarheid bij de behandeling van de individuele patiënt. De ontwikkeling van criteria gebaseerd op farmacokinetiek en farmacodynamiek lijken veelbelovend (9)

De grenzen voor gevoeligheid en resistentie bij de DD-methode en de bepaling van de MIC volgens de CLSI zijn niet vastgelegd voor amoxicilline maar worden geëxtrapoleerd op basis van de resultaten bekomen voor ampicilline; de criteria voor amoxicilline-clavulaanzuur zijn «S» indien de diameter ≥ 20 mm is en MIC $\leq 4/2$ $\mu\text{g/ml}$; «R» indien de diameter ≤ 19 mm en MIC $\geq 8/4$ $\mu\text{g/ml}$ (12) Sommige auteurs hebben geprobeerd om ampicilline (2 μg) en amoxicilline-clavulaanzuur (3 μg) schijfjes met een lage concentratie te gebruiken om de BLNAR te detecteren, maar de resultaten voldoen niet altijd (14). In een recente studie, is enkel de bepaling van de MIC via microdilutie geschikt gevonden om BLNAR en BLPACR op te sporen en worden er criteria voorgesteld voor het vastleggen

van de gevoeligheid, die echter via andere studies nog bevestigd moeten worden; voor amoxicilline: volledig gevoelig als $MIC \leq 0,5 \mu\text{g/ml}$; en voor amoxicilline-clavulaanzuur: volledig gevoelig als $MIC \leq 0,5 \mu\text{g/ml}$ voor amoxicilline en amoxicilline-clavulaanzuur. Er wordt ook een interessant beslissingsalgoritme voorgesteld dat gebaseerd is op een vermoeden van mutaties op niveau van de PBP3 van zodra de MIC voor amoxicilline (of amoxicilline-clavulaanzuur als de stam β -lactamase + is) $\geq 1 \mu\text{g/ml}$ (14) is. In deze studie, die stammen met een lage MIC omvatte, vertoonde de DD methode een volledige overlapping tussen de zones en onderschatte de E-test vaak de MIC voor amoxicilline, in tegenstelling tot de studie van Billal voor ampicilline (13).

In België is de resistentie door β -lactamase(β +), onder de stammen die naar het referentiecentrum verstuurd worden, relatief stabiel (cfr. tabel) en dit komt overeen met de resistenties die recent beschreven werden (2, 5, 7, 9).

Jaar	Invasief		Niet invasief		Site onbekend			
	Totaal β +	β +%	β +	β +%	β +	β +%		
1994				28,8		23		
2000	24/100	24	7/44	16	17/56	30		
2002	13/81	16	9/65	14	3/14	21	2	1
2005	27/127	21,3	14/69	20,3	13/57	22,8	1	0
2007	22/147	15	9/66	13,6	13/81	16	1	0

De gegevens van de invasieve stammen zijn niet echt vergelijkbaar met de niet-invasieve vermits het hier geen opeenvolgende stammen betreft (1).

De ampicilline-resistentie zonder β -lactamase-productie, maar door modificatie van PBP3, is zonder twijfel zeldzaam in België, maar zoals al vermeld in de inleiding, is de identificatie moeilijk zonder gebruik te maken van moleculaire technieken en laten de methoden die momenteel in het referentiecentrum gebruikt worden laten niet toe om deze stammen optimaal te detecteren [1 enkele stam, intermediair voor ampicilline via DD in 2000 - geen enkele in 2002 (de 2 stammen die intermediair waren volgens de diskdiffusie methode bleken gevoelig ($0,19 \mu\text{g/ml}$ met de E-test)) - 1 stam geïsoleerd uit hemoculturen in 2003 met MIC via E-test $1,5 \mu\text{g/ml}$) - 3 stammen in 2004 NT (MIC via E-test $0,5 \mu\text{g/ml}$ en $2 \mu\text{g/ml}$ voor de 2 stammen) - geen enkele in 2005 en 4 in 2007, allen NT met MIC S ($0,38$ en 1 g/ml) of I ($1,5$ en $2 \mu\text{g/ml}$)].

De stam van de EKE was resistent tegen ampicilline via β -lactamase-productie, wat de meeste deelnemers vast gesteld hebben (177 /183, 96.7%), één laboratorium gaf geen antwoord en 5 antwoordden negatief (0,3%). Drie van de laboratoria die het β -lactamase als negatief geantwoord hebben, hebben ons hun methode bezorgd: 2 ervan gebruikten geen cefinase; verschillende onder hen gebruikten de variaties van de zones in aanwezigheid van clavulaanzuur, wat niet geschikt is voor de detectie van β -lactamase, zelfs indien een toename van de inhibitiezone door clavulaanzuur in vergelijking met de inhibitiezone door amoxicilline of ampicilline verklaard kan worden door de aanwezigheid van een β -lactamase van het type type TEM.

De antibiotica-gevoeligheid van de EKE-stam werd via DD getest door het referentiecentrum (papier schijfjes van Oxoid) op HTM (Becton-Dickinson) en gaf de volgende resultaten: ampicilline ($10 \mu\text{g}$ - 20 mm I), cefuroxime ($30 \mu\text{g}$ - 33 mm S), ciprofloxacine ($5 \mu\text{g}$ -42 mm S), tetracycline ($30 \mu\text{g}$ - 33 mm S), cotrimoxazole (32 mm S, azithromycine ($15 \mu\text{g}$ -21 mm S) en een MIC van $3 \mu\text{g/ml}$ (I) met de E-test (in gebruik sinds 2000 voor het testen van de probleemstammen).

Aanbevelingen

Het opsporen van het β -lactamase blijft de enige routine-test en kan uitgevoerd worden door de hydrolyse van het nitrocefine (cefinase). Geen enkele andere methode is geschikt voor deze opsporing.

De DD en de E-test hebben belangrijke beperkingen: als ze uitgevoerd worden, moeten ze gebeuren op een verse HTM agar en met standaardisatie van het inoculum.

De toename van resistentie tegen β -lactams door wijzigingen van de PBP3 in de ons omringende Europese landen moet een aansporing zijn om gegevens te verzamelen over klinische en microbiologische discordanties en om deze stammen aan het referentiecentrum te bezorgen.

Het referentielaboratorium zal kortelings een methode op punt stellen voor evaluatie van de gevoeligheid voor ampicilline via de dilutiemethode in HTM bouillon.

F. Crockaert, Centre de référence des Haemophilus, Laboratoire de la Porte de Hal, Bruxelles

REFERENTIES

1. Crokaert F. 2004. Externe kwaliteitsevaluatie van de analyses in Klinische Biologie, enquête, Microbiologie 01/ 2004 (M/4918).
2. Dabernat, H., C. Delmas, M. Seguy, R. Pelissier, G. Faucon, S. Bennamani, and C. Pasquier. 2002. Diversity of beta-lactam resistance-conferring amino acid substitutions in penicillin-binding protein 3 of *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:2208-2218.
3. García-Cobos, S., J. Campos, E. Lázaro, F. Román, E. Cercenado, C. García-Rey, M. Pérez-Vázquez, J. Oteo, and F. de Abajo. 2007. Ampicillin-resistant non- β -lactamase-producing *Haemophilus influenzae* in Spain: recent emergence of clonal isolates with increased resistance to cefotaxime and cefixime. *Antimicrob Agents Chemother.* 51: 2564-2573.
4. Clairoux, N., M. Picard, A. Brochu, N. Rousseau, P. Gourde, D. Beauchamp, T. R. Parr, M. G. Bergeron, and F. Malouin. 1992. Molecular basis of the Non β -lactamase-mediated resistance to β -lactam antibiotics in strains of *Haemophilus influenzae* isolated in Canada. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36:1504-1513.
5. Pérez-Trallero, E., C. García de la Fuente, C. García-Rey, F. Baquero, L. Aguilar, R. Dal-Ré, J. García-de-Lomas, and the Spanish Surveillance Group for Respiratory Pathogens. 2005. Geographical and ecological analysis of resistance, coresistance, and coupled resistance to antimicrobials in respiratory pathogenic bacteria in Spain. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49:1965-1972.
6. Maaroufi Y, De Bruyne JM, Heymans C, Crokaert F. Real-time PCR for determining capsular serotypes of *Haemophilus influenzae*. *J Clin Microbiol.* 2007 Jul;45(7):2305-8.
7. Dabernat H., M.-A. Plisson-Sauné, C. Delmas, M. Seguy, G. Faucon, R. Pelissier, H. Carsenti et al. 2003. *Haemophilus influenzae* carriage in children attending day care centers: a molecular epidemiologic study. *J. Clin. Microbiol.* 41:1664-1672.
8. Livermore DM. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1995; 8: 557-58.
9. Tristram, S., Jacobs M.R. and Appelbaum P.C. 2007. Antimicrobial Resistance in *Haemophilus influenzae*. *Clinical Microbiological Reviews.* 20: 368-389.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2002. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Eleventh informational supplement M100-S12. NCCLS, Wayne, PA, USA.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Seventh edition. Approved Standard M7-A7. NCCLS, Wayne, PA, USA.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2007. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing-Seventeenth Edition: Approved Standard M100-S17, NCCLS, Wayne, PA, USA
13. Billal, D. S., M. Hotomi, and N. Yamanaka. 2007. Can the E-test correctly determine the MICs of β -lactam and cephalosporin antibiotics for β -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*? *Antimicrob Agents Chemother.* 51:3463-3464.

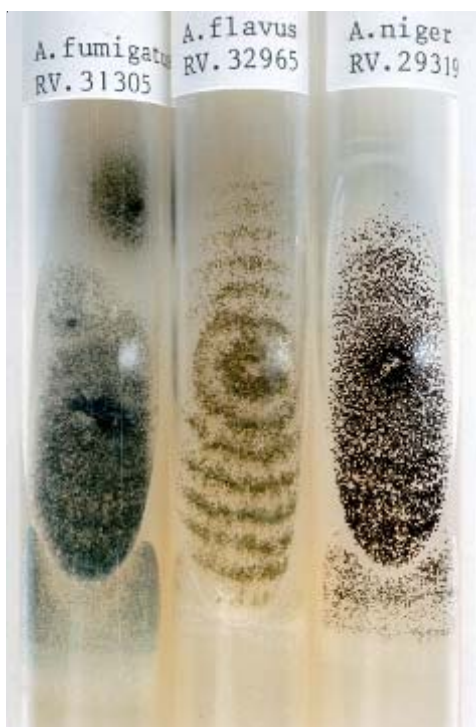
- 14 García-Cobos S., J. Campos, F. Román, C. Carrera, M. Pérez-Vázquez, B Aracil and J. Oteo. 2008. Low β -lactamase negative ampicillin resistant *Haemophilus influenzae* are best detected by testing amoxicillin susceptibility by the broth microdilution method. *Antimicrob. Agents Chemother.* (in press)

2.2. Cultuur M/7223 (*Aspergillus niger*)

Honderdtweeënzeventig van de 183 labos (94%) identificeerden de *Aspergillus niger* correct. Deze goede score is niet verwonderlijk. De macroscopisch zwarte kleur van de kolonies (vandaar de naam niger) in combinatie met het microscopisch vinden van de typische 'Aspergillus-hoofdjes' leidt meestal zonder problemen tot de identificatie. De stam wordt in routine om dezelfde reden zelden doorgestuurd voor verdere identificatie.

Het genus *Aspergillus* bestaat uit 184 species, waarvan er 40 beschreven zijn als potentieel pathogeen voor mens of dier. Zoals de andere leden van het genus is *A. niger* een saprofiet. Deze schimmel komt overvloedig voor in onze omgeving (1).

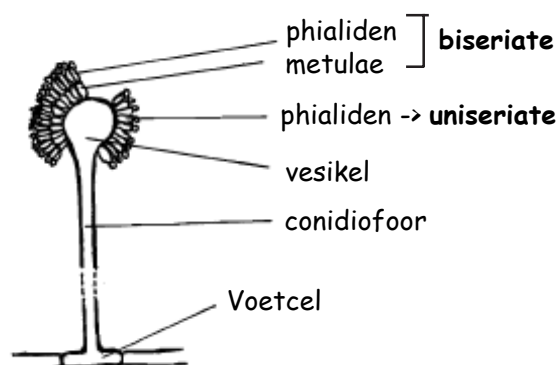
Het macroscopisch uitzicht van de schimmels laat, zoals gezegd, soms al toe een differentiatie van de verschillende *Aspergillus* species te doen. Figuur 1 toont het macroscopisch aspect van de drie meest voorkomende *Aspergillus* species, *A. fumigatus*, *A. flavus* en *A. niger*.



Figuur 1. Macroscopisch aspect van 3 *Aspergillus* species.

Daarnaast gebeurt de differentiatie van de verschillende species met microscopisch onderzoek waarbij gelet wordt op de vorm en grootte van de vesikels en de organisatie van de conidiogene cellen, met name de metulae en fialiden (2).

In Figuur 2 is een schematische voorstelling van *Aspergillus* te zien. De conidiofoor heeft een gezwollen einde, de vesikel, die de conidiogene cellen draagt. Fialiden zijn cellen met een terminale opening waarin conidia worden geproduceerd. Indien er een enkele laag van fialiden aanwezig is op de vesikel, spreekt van men van een uniseriële organisatie. Indien de fialiden gesteund worden door een laag metulae, is de organisatie biseriëel (Engels: uniseriate - biseriata).



Figuur 2. Schematische voorstelling van *Aspergillus*

De zwarte kolonies van *A. niger* bestaan uit een dichte opeenhoping van conidioforen. Deze conidioforen hebben een gladde wand. Ze kunnen hyalien (kleurloos/transparant) of gepigmenteerd zijn (2). *A. niger* heeft ronde vesikels en is biseriëel georganiseerd. De conidiogene cellen bevinden zich volledig rondom de vesikel (zie Figuur 3 en 4).



Figuur 3.



Figuur 4.

Otitis externa wordt meestal veroorzaakt door *Pseudomonas aeruginosa* (swimmers ear) maar ook andere aërobe bacteriën kunnen otitis externa veroorzaken. (3-5). Het aandeel van fungi verschilt sterk volgens de vochtigheidsgraad van de omgeving en de warmte, die ervoor zorgt dat de mens het water opzoekt (3). De rol van schimmels en gisten is beperkt in landen met gematigd klimaat zoals Noord-Spanje (6.9%) (5) en Noorwegen (9.3%) (6) maar is aanzienlijk in tropische regio's zoals Singapore (62.4%) (7) en Indië (66.6%) (8). Van de schimmels is *A. niger* de meest voorkomende veroorzaker van otitis externa (5,7,8).

Frequent wordt meer dan 1 micro-organisme geïsoleerd (4,7). De aanwezigheid van fungi in de uitwendige gehoorgang op zich is geen bewijs dat de klachten door deze fungi veroorzaakt worden. Ook kolonisatie en subklinische aanwezigheid zijn mogelijk. Een zeer zeldzame keer kan *A. niger* maligne (invasieve) otitis externa veroorzaken (9) bij een patiënt met diabetes mellitus of een andere immuniteitsstoornis. Ook deze aandoening wordt meestal veroorzaakt door *P. aeruginosa*. Daar *Aspergillus* de uitwendige gehoorgang ook kan koloniseren is voor deze diagnose histologisch bewijs van weefselinvasie nodig.

De diagnose van otitis externa door schimmels gebeurt met rechtstreeks onderzoek en kweek. Ook op niet-selectieve bodems voor bacteriologie kunnen schimmels opgespoord worden op voorwaarde dat de platen lang genoeg geïncubeerd worden. *A. niger* is gemiddeld na 3 tot 5 dagen goed herkenbaar.

Naast de medicamenteuze behandeling is ook het schoonmaken van de gehoorgang van groot belang (3, 7).

Marjan Van Esbroeck, ITG Antwerpen

Met dank aan Danielle Swinne en Marc Lontie voor de fotos.

REFERENTIES

1. Manual of Clinical Microbiology. Murray P.R., Barron E.J., Jorgensen J.H., Pfaller M.A., Tenover F.C., Tenover R.H. 8th edition. ISBN 1-55581-255-4
2. Atlas of Clinical Fungi. G.S. De Hoog & J. Guarro. ISBN 90-70351-26-9.
3. Burgos Sánchez AJ, Lafarga J, Galvañ B, Talavera J, Trigueros M. [Descriptive study of infectious ear disease in relation to summer] *Acta Otorrinolaringol Esp.* 2000 Jan-Feb;51(1):19-24.
4. Brook I, Frazier EH, Thompson DH. Aerobic and anaerobic microbiology of external otitis. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 955-8
5. Bayó M, Agut M, Calvo MA. [Infectious external otitis: etiology in the Terrassa region, culture methods, and considerations on otomycosis]. *Microbiologia.* 1994 Sep;10(3):279-84.
6. Dibb WL. Microbial aetiology of otitis externa. *J Infect.* 1991 May;22(3):233-9.
7. Loh KS, Tan KK, Kumarasinghe G, Leong HK, Yeoh KH. Otitis externa-the clinical pattern in a tertiary institution in Singapore. *Ann Acad Med Singapore.* 1998 Mar; 27(2):215-8.
8. Talwar P, Chakrabarti A, Kaur P, Pahwa RK, Mittal A, Mehra YN. Fungal infections of ear with special reference to chronic suppurative otitis media. *Mycopathologia.* 1988 Oct ;104 (1):47-50.
9. Bellini C, Antonini P, Ermanni S, Dolina M, Passega E, Bernasconi E. Malignant otitis externa due to *Aspergillus niger*. *Scand J Infect Dis.* 200

2.3. Cultuur M/7828 (*Streptococcus agalactiae*)

Was een *Streptococcus agalactiae* of *Streptococcus* van groep B die gekozen werd omwille van de afwezigheid van β -hemolyse.

2.3.1. **Klinisch belang (1-3)**

Streptococcus agalactiae zijn streptokokken van groep B volgens Lancefield (GBS). De GBS behoren tot de commensale flora van de gastro-intestinale (voornaamste reservoir) en genitale tractus. De GBS vormen echter wel de voornaamste oorzaak van infecties bij de pasgeborene en kunnen ook infecties veroorzaken bij de volwassene gedurende of buiten de zwangerschap. Het niveau van kolonisatie verschilt volgens etnische origine, geografische lokalisatie en leeftijd. De prevalentie van de vaginale en rectale kolonisatie bij zwangere vrouwen situeert zich tussen 10 en 30%, in België 15 à 30%. Deze kolonisatie is dynamisch: longitudinale studies hebben aangetoond dat het dragerschap chronisch, voorbijgaand of intermitterend kan zijn. De genitale kolonisatie is meestal asymptomatisch en enkel bacteriologisch onderzoek laat toe om de dragers te identificeren. Kolonisatie van de maternale genitale tractus gedurende de zwangerschap is geassocieerd met kolonisatie van het kind en vormt een risicofactor voor het optreden van een ernstige perinatale infectie (sepsis en/of meningitis). Neonatale infecties door GBS bestaan uit 2 epidemiologisch te onderscheiden klinische vormen, en dit in functie van het ogenblik van optreden: de vroegtijdige en de laattijdige infecties. De vroegtijdige neonatale infectie treedt op tijdens de 1e levensweken, meestal zelfs binnen de eerste 24 uur. De klinische uitingen bestaan gewoonlijk uit sepsis zonder focus en pneumonie, eventueel vergezeld van meningitis (10 à 15 % van de gevallen). Deze kan gekenmerkt zijn door een snelle ontwikkeling van ernstige « respiratory distress », sepsis met shock, diffuse intravasculaire coagulatie en orgaanfalen (van de vitale organen). De laattijdige infectie treedt meestal op tussen 7 dagen en 3 maanden. Ze is gekenmerkt door koorts, bacteriëmie (55%) en vaak ook door meningitis (35%). Andere lokalisaties van deze infectie zijn septische artritis, osteomyelitis (5%) en cellulitis (2%). GBS zijn eveneens vaak oorzaak van postpartum infecties. Bij volwassenen veroorzaken GBS voornamelijk bacteriëmie, endocarditis, infecties van huid en weke delen en osteomyelitis. Voorbeschikkende co-factoren zijn diabetes, oncologische aandoeningen en immunodeficiëntie.

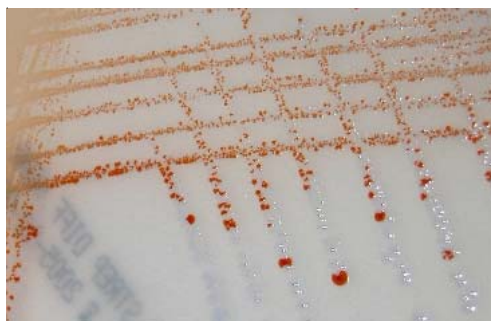
2.3.2. Cultuur

GBS groeien gemakkelijk op de meeste niet-selectieve cultuurbodems. Groei op bloedbodem toont een β -hemolytische reactie, die karakteristiek is voor hun identificatie.

GBS kolonies kunnen een karakteristiek oranje pigment vertonen, dat meer of minder intens kan zijn naargelang de culturomstandigheden: incubatie-atmosfeer (anaërobiose) en samenstelling van het milieu. De expressie van dit oranje pigment is gecorreleerd aan de expressie van het β -hemolysine wat een genetische link tussen de 2 fenotypes suggereert (2). Het gebruik van selectieve vaste bodems van het Granada type, geïncubeerd onder anaërobiose, laat de directe en eenvoudige identificatie van de oranje GBS kolonies toe (zie figuur 1.a). Deze verkleuring is 100% specifiek voor GBS. De niet-hemolytische GBS stammen blijven kleurloos op een Granada-bodem en kunnen dus niet onderscheiden worden van de omringende flora.

Recent werden twee chromogene media ontwikkeld voor de selectieve cultuur van groep B streptokokken met inbegrip van de niet-hemolytische stammen: na 24 à 48 uur incubatie bij 35°C onder aërobiose, hebben de GBS een roze-rood aspect op de StrepB Id bodem (bioMérieux) en een blauw-turkoois aspect op de StrepB Select bodem (BioRad) (zie figuren 1.b en 1.c). Deze chromogene bodems zijn niet volledig specifiek en de identificatie van elke type van kolonie dat suggestief is voor GBS zal steeds bevestigd moeten worden door het aantonen van het groep B-antigeen.

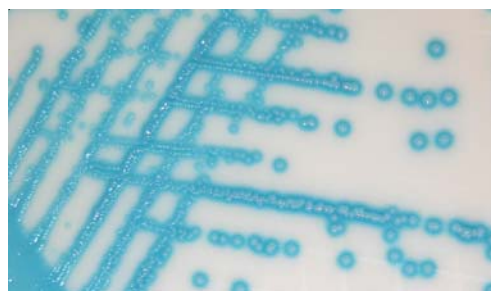
Figuur 1: a- oranje kolonies van GBS op Granadabodem na 48 uur incubatie onder anaërobiose; b- donker roze kolonies van GBS op Strep B ID bodem na 48 uur incubatie onder aërobiose en c- blauw-turkooise kolonies van GBS op Strep B Select bodem na 48 uur incubatie onder aërobiose



a



b



c

Een selectief medium dat eveneens voor de kweek van GBS gebruikt wordt, is de gewijzigde «Edwards bodem». Deze bodem wordt vooral gebruikt voor de cultuur van melk bij de diagnose van mastitis bij runderen. Er werd nog geen enkele klinische studie gepubliceerd over zijn gebruik, specificiteit en gevoeligheid in het opsporen van GBS uit recto-genitale stalen van zwangere vrouwen.

2.3.3. Screening op recto-vaginale kolonisatie

In de context van preventie van perinatale GBS infecties wordt aangeraden om een screening naar recto-vaginale kolonisatie door GBS uit te voeren, bij alle vrouwen in de 35-37^e zwangerschapsweek (4,5). Om de gevoeligheid van de culturen te verhogen, raadt de Hoge Gezondheidsraad (2003), net zoals de Centers for Disease Control and Prevention (CDC, USA, 2002), aan om in het kader van deze screening de recto-vaginale wissers eerst in een selectieve aanrijkingsbodem in cultuur te brengen en vervolgens over te enten op een vaste bodem (4,5). Volgens de aanbevolen procedure moeten de wissers geënt worden in een aanrijkingsbodem van het type Todd-Hewitt die colistine en nalidixinezuur bevat (bouillon van Lim). Na een overnacht incubatie bij 35°C, moet deze bodem overgeënt worden: in 2003 raadde de Hoge Gezondheidsraad een bodem van het type Granada aan om een maximale gevoeligheid te bekomen (of bij gebrek hieraan een bloedbodem). In 2008, laten de nieuwe differentieel-selectieve bodems, StrepB ID en StrepB Select, toe een gevoeligheid te bekomen die gelijkwaardig is en zelfs superieur wat betreft StrepB select, aan deze bekomen op de Granada bodem (6,7). In het schema dat voorgesteld wordt door de Hoge Gezondheidsraad, kan de Granada bodem zeker vervangen worden door één van deze beide chromogene media. Geen enkele bodem laat de identificatie toe van alle GBS-positieve stalen (ongeacht de geraadpleegde studies). We herhalen hier dat, in tegenstelling tot de Granada bodem, de chromogene bodems onder aërobie en niet onder anaërobie geïncubeerd moeten worden en dat elke als GBS verdachte kolonie op deze bodems moet bevestigd worden met een agglutinatietest (wat niet nodig is voor de oranje kolonies op Granada bodem). Ongeacht de gebruikte bodem, moeten de overentingen onderzocht worden op de aanwezigheid van GBS na overnacht incubatie onder de voorgeschreven omstandigheden; indien de 1^e aflezing negatief is, wordt de incubatieduur met 24 uur verlengd vooraleer een definitief antwoord af te leveren (5,7).

Momenteel is er weinig geweten over de prevalentie van de niet-hemolytische stammen in de vaginale flora bij vrouwen, maar deze zal zeker niet hoger zijn 3 à 4 %. Het aantonen of niet van deze stammen in de prenatale screeningsstalen wijzigt de globale gevoeligheid van de culturen op de verschillende GBS-specifieke bodems niet; deze gevoeligheid bedraagt echter 0% of 100% naargelang de gebruikte bodem. Elk laboratorium zou minstens 1 van de 3 voorgestelde bodems moeten uitkiezen; hierbij moet men rekening houden met de analytische kenmerken en nadelen van elk van deze bodems. De belangrijkste praktische factoren waarmee men rekening moet houden zijn de initiële kostprijs van de bodem en de indirecte kosten die afhankelijk zijn van de incubatie-atmosfeer, van het gegeven of men al dan niet genoodzaakt is om de identificatie van de vermoedelijke GBS-kolonies te bevestigen en van de tijd die dit alles vergt van het laboratorium-personeel.

Om het belang van het opsporen van de niet-hemolytische stammen na te gaan, heeft het referentiecentrum voor GBS een prospectieve surveillance-studie opgestart van de prevalentie van deze stammen in de vaginale flora en van de incidentie in de vroegtijdige neonatale infecties. Om dit doel te bereiken, bestaat de rationele, doeltreffendste methode, die met een beperkte workload de hoogste gevoeligheid oplevert en de niet-hemolytische stammen opspoort, uit de directe enting van de recto-vaginale wisser of de vaginale en rectale wissers in één enkele aanrijkingsbodem, die na overnacht incubatie bij 35°C overgeënt wordt op Granada-bodem en een differentieel-

selectieve bodem. Na incubatie onder de voorgeschreven omstandigheden, worden de oranje kolonies op Granada-bodem onmiddellijk als GBS geïdentificeerd; voor de « Granada-negatieve » culturen, moet de identificatie van elke als GBS verdachte kolonie op chromogene bodem bevestigd worden door het aantonen van het groep B-antigeen.

2.3.4. Identificatie

De identificatie van een niet-hemolytische GBS stam stelt geen grote problemen, zoals de resultaten van deze EKE bewijzen. We moeten nochtans opmerken dat 6% van de laboratoria bij het antwoorden verkeerdelijk aangegeven hebben dat de stam « β -hemolytisch » was. Zoals 3 laboratoria vermeld hebben, zouden de methoden die klassiek aangeraden worden voor de screening van GBS, deze stam niet teruggevonden hebben (Hoge Gezondheidsraad 2003).

GBS zijn Gram positieve kokken in kettingen, facultatief anaëroob; zij groeien gemakkelijk op de gebruikelijke cultuurbodems.

Op bloedbodem vertonen de kolonies van 1 à 2 mm β -hemolyse van wisselende intensiteit die meestal smaller en waziger is dan deze van andere β -hemolytische streptokokken. 2 à 3% van de GBS stammen die verantwoordelijk zijn voor invasieve infecties zijn echter niet-hemolytisch. Hun prevalentie in de vaginale kolonisatie werd niet bestudeerd, maar het recente gebruik van chromogene media, die hun identificatie toelaten, wijst op aantallen <2%.

De biochemische identificatie van een streptokok met behulp van commerciële methoden, gevolgd door de bevestiging van het groep B-antigeen van de al dan niet hemolytische GBS voldoet over het algemeen. De moeilijkheid van de niet-hemolytische stammen is niet hun identificatie, maar wel het aantonen ervan wanneer ze voorkomen in een gemengde flora, zoals bijvoorbeeld de recto-vaginale flora. Noch de kweek op een bloedbodem, met of zonder nalidixinezuur en colistine, noch de kweek op een bodem van het type Granada laten over het algemeen toe om dit soort kolonies als GBS aan te tonen. Enkel kweek op nieuwe specifieke chromogene media laat gemakkelijk toe om deze GBS aan te tonen en vervolgens te identificeren.

Meer dan 99% van de stammen hebben een CAMP positieve reactie: detectie van een extracellulair proteïne dat zich verspreidt in de bodem en die de hemolytische activiteit van het β -hemolysine van *Staphylococcus aureus* op schapen rode bloedcellen versterkt. Deze test laat een vermoedelijke, maar geen definitieve identificatie van de GBS toe. 99% van deze stammen hydrolyseren hippuraat; geen enkele hydrolyseert esculine.

De definitieve identificatie berust op het immunologisch aantonen van het groep B-antigen (agglutinatie-test).

2.3.5. Klinisch belang van het β -hemolysine (3)

Het tot stand komen van een neonatale infectie met GBS is complex en multifactorieel. Naast de virulentiefactoren van de stam zelf, spelen gastheerfactoren een centrale rol. De 1e stappen van de pathogenese van infecties door GBS bij pasgeborenen worden hierna samengevat. De streptokok dient eerst en vooral de vaginale mucosa van de zwangere vrouw te koloniseren. Dit proces omvat adhesie aan de epitheelcellen en resistentie tegen de humorale verdedigingsmechanismen van de vaginale mucosa zoals gesecreteerde IgA. Om de foetus te bereiken moeten de GBS vervolgens opklimmen naar de amnionholte via penetratie doorheen de placentaire membranen. Chorioamnionitis en bacteriële proliferatie laten de GBS toe om door te dringen in de longen van de foetus door aspiratie van het geïnfecteerde amnionvocht. Een andere mogelijkheid is dat de neonatus de GBS verwerft tijdens zijn passage doorheen de genitale tractus. Na de geboorte moeten de GBS erin slagen zich te vermenigvuldigen in de alveolen van de pasgeborenen door zich vast te hechten aan het respiratoire epitheel en te ontsnappen aan de eliminatie door de pulmonaire macrofagen. De pneumonie, met wijziging van het pulmonaire epitheel en endotheel, is karakteristiek voor de vroegtijdige neonatale infecties, en zou deels veroorzaakt kunnen worden door de cytotoxische eigenschappen van het β -hemolysine van de GBS.

De mogelijke rol van het β -hemolysine van de GBS bij de wijziging van het pulmonaire epitheel werd in verschillende studies aangetoond op *in vitro* celculturen en in een diermodel door het gebruik van GBS mutanten die ofwel niet-hemolytisch ofwel hyper-hemolytisch waren. Het β -hemolysine blijkt een rol te spelen in de verandering van het pulmonaire epitheel door de GBS; de laesies zijn eveneens belangrijker bij de hyper-hemolytische stammen. Het β -hemolysine van de GBS werkt als een cytolytine dat poriën veroorzaakt in de celmembraan zoals ook wordt vastgesteld met het α -toxine van *Staphylococcus aureus*. Naargelang de ingangspoort van de GBS, verschilt de virulentie van de hemolytische of niet-hemolytische mutanten. Bij een extra-pulmonaire ingangspoort zou er weinig of geen verschil zijn. Voor de GBS-infecties die langs de respiratoire tractus verworven worden daarentegen, speelt het β -hemolysine een unieke rol. Daarenboven moeten tevens de systemische effecten van het β -hemolysine in aanmerking genomen worden.

Bij de vroegtijdige neonatale infectie, treedt de aandoening meestal op na een besmetting van de luchtwegen: in deze omstandigheden lijken de niet-hemolytische stammen minder virulent.

2.3.6. Gevoeligheid aan antibiotica

De gevoeligheidsbepaling werd niet gevraagd ter gelegenheid van deze EKE, maar ter informatie: alle stammen van humane oorsprong blijven gevoelig voor penicilline G, voor andere β -lactam antibiotica, cefalosporines, carbapenems en vancomycine. Gezien zijn efficiëntie en zijn smal spectrum, geniet penicilline de voorkeur in de intrapartale profylaxe en in de behandeling van infecties door GBS. In geval van penicilline-allergie met een beperkt risico op anafylaxie is cefazoline het alternatief. GBS hebben een natuurlijke resistentie tegen bacitracine, nalidixinezuur, trimethoprim-sulfamethoxazole, metronidazole en de aminosiden. Nochtans treedt er zowel *in vivo* als *in vitro* een synergistische bactericide reactie op, wanneer gentamicine aan ampicilline geassocieerd wordt. De verworven resistentie

tegen tetracyclines bereikt momenteel 90 %. Clindamycine en erythromycine zijn de alternatieven ingeval van penicilline-allergie met hoog risico op anafylaxie, maar men moet weten dat in België, zoals in vele andere landen, tussen 1995 en 2003, de resistenties tegen erythromycine en clindamycine gestegen zijn van respectievelijk 8 naar 30% en van 3 naar 20% (8,9), Sindsdien lijken deze resistenties gestabiliseerd te zijn. (zie tabel 1).

De interpretatie criteria van de CLSI (voorheen NCCLS) bevinden zich in de tabel « *Streptococcus spp non S.pneumoniae* ».

Tabel 1: Evolutie van de resistenties tegen penicilline, erythromycine en clindamycine van de GBS stammen die geïsoleerd werden uit invasieve infecties bij de pasgeborenen en bij volwassenen van 1999 tot 2007 (Gegevens van het referentielaboratorium voor streptokokken van groep B) (9)

Antibioticum	1999-2000 N= 326 % resistentie	2001-2002 N= 125 % resistentie	2005 N= 133 % resistentie	2006 N= 104 % resistentie	2007 N= 58 % resistentie
Penicilline	0%	0%	0%	0%	0%
Erythromycine	10,4%	19,2%	30,8%	27,9%	27,6%
Clindamycine		15,2%	24,8%	25%	20,7%

Gevoeligheid voor penicilline en β -lactam antibiotica

De CLSI raadt niet aan om systematisch de gevoeligheid van de GBS voor penicilline te bepalen want ze zijn steeds gevoelig zelfs als de vastgestelde MIC-waarden hoger zijn dan deze van bijvoorbeeld *Streptococcus pyogenes*. Elk laboratorium dat een GBS stam isoleert die « niet-gevoelig voor penicilline-G » zou zijn, zou deze stam moeten doorsturen naar het referentielaboratorium voor bevestiging (voor België: P.Melin, microbiologie médicale, CHU de Liège, B-23, Sart Tilman, 4000 LIEGE). Hoewel de CLSI geen waarden geeft voor de interpretatie van de gevoeligheid voor cefazoline, wordt aangeraden om alle GBS stammen die gevoelig zijn voor penicilline als gevoelig voor cefazoline te beschouwen.

Resistentie tegen macroliden en lincosamiden

Voor de beschrijving van de mechanismen en de procedure voor de bepaling van het resistentie-fenotype, verwijzen wij naar het rapport van de EKE 2005/2.

P.Melin (CHU de Liège, laboratoire de référence des streptocoques du groupe B)

REFERENTIES

1. Anthony BF, Okada DM, Hobel CJ. Epidemiology of group B streptococcus: longitudinal observation during pregnancy. *J Infect Dis* 1978;**137**:524-30
2. Schuchat A, 1999. Group B streptococcus. *Lancet* **353**:51-6
3. Streptococcal infections. In *Streptococcal Infections - Clinical aspects, Microbiology, and molecular pathogenesis*, Edited by Steves DL and Kaplan EL, Oxford University Press 2000 ; 221-37
4. CDC.Prevention of perinatal Group B streptococcal disease: Revised guidelines from CDC. *MMWR* 2002;**51** (RR11);1-22.
5. Aanbevelingen van de Hoge Gezondheidsraad, 2003 (HGR 7721): Preventie van perinatale groep B streptokokkeninfecties
http://www.health.fgov.be/CSH_HGR/Francais/Brochures/GBS_2003.pdf en http://www.health.fgov.be/CSH_HGR/Nederlands/Brochures/GBS_2003.pdf
6. P. Melin, S. Bonafe, MP. Hayette, P. De Mol « Evaluation of the Strepto B ID agar for the detection of group B streptococci from vaginal and recto-vaginal specimens.», (Abstract # C-318). In: *Program and abstracts of the 106th General Meeting of the American Society for microbiology*, Washington, DC, American Society for Microbiology, 2006
7. Melin P et al. Evaluation of the StrepB Select Agar for the detection of group B streptococci from vaginal and recto-vaginal specimens. In : *Program and abstracts of the 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, Barcelona, Spain, 2008.
8. Melin P, Rodriguez Cuns G, Vicentino Fernandez W, De Mol P, Antimicrobial Susceptibility of *Streptococcus agalactiae* isolated from patients in Belgium through 1989-1991 and 1996-1999. *Proceedings of the XIV Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases*, November 2000, 305-9
Melin P, 2008. Table 3 Resistance of *Streptococcus agalactiae* in Belgium. In : *The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy 2008-2009 Belgium / Luxembourg Edition* (in press)

2.4. Cultuur M/4040 (*Escherichia coli*)

Wij verwijzen naar de commentaren in de globale rapporten van de enquêtes :
2007/1, 2003/2, 2002/2 en 2001/2.

III. RESULTATEN VAN DE IDENTIFICATIES (N = 183)

De correcte of aanvaardbare resultaten zijn onderlijnd.

3.1. Cultuur M/4438 *Haemophilus influenzae* (ooretter)

<u><i>Haemophilus influenzae</i></u>	179 (97.8%)
<u><i>Haemophilus influenzae</i> biotype I</u>	2 (1.1%)
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	2

3.2. Cultuur M/7223 *Aspergillus niger* (ooretter)

<u><i>Aspergillus niger</i></u>	172 (94.0%)
<i>Aspergillus</i> species	2
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1
<i>Zygomycetes</i> species	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1
Afwezigheid van pathogenen (<i>S. epidermidis</i>)	1
Geen groei	4

3.3. Cultuur M/7828 *Streptococcus agalactiae* (screening zwangere vrouw)

<u><i>Streptococcus agalactiae</i></u>	129 (70.5%)
<u><i>Streptococcus agalactiae</i> (groep B)</u>	26 (14.2%)
<u><i>Streptococcus agalactiae</i> (β-hemolytisch van groep B)</u>	6 (3.3%)
<u><i>Streptococcus agalactiae</i> (niet-hemolytisch)</u>	6 (3.3%)
<u><i>Streptococcus</i> van groep B</u>	5 (2.7%)
<u>β-hemolytische <i>Streptococcus</i> van groep B</u>	5 (2.7%)
<u>Niet-hemolytische <i>Streptococcus</i> van groep B</u>	1 (0.5%)
<i>Streptococcus dysgalactiae equisimilis</i>	1
<i>Streptococcus anginosus</i>	1
Geen pathogenen	1
Naar gespecialiseerd laboratorium	1
Geen antwoord	1

Opmerkingen:

- 3 laboratoria melden dat de stam in routine niet gedetecteerd zou zijn aangezien het gebruikte milieu LIM+ Granada niet toelaat niet-hemolytische stammen te detecteren.
- Hoewel de stam niet hemolytisch was, werden de antwoorden die « β -hemolytische *Streptococcus agalactiae*/ β -hemolytische *Streptococcus* van groep B» bevatten aanvaard, omdat dit de wijze is waarop de *S. agalactiae* door deze laboratoria in routine gerapporteerd worden.

3.4. Cultuur M/4040 *Escherichia coli* (hemocultuur)

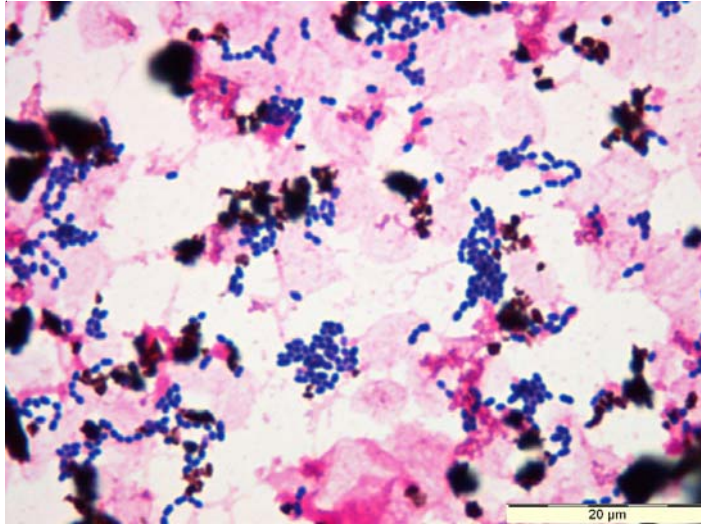
<u><i>Escherichia coli</i></u>	181 (98.9%)
Naar gespecialiseerd laboratorium	1
Niet uitgevoerd	1

Opmerking: 4 laboratoria vermelden dat de stam indol negatief is; 1 laboratorium dat ze ESBL negatief is.

3.5. Gramkleuring M/8238 Gram-positieve kokken (*Streptococcus pneumoniae*)
(Gramkleuring)

Gram positieve kokken	178 (97.3%)
Gram variabele kokken	3
Gram positieve bacillen	1
Gram negatieve bacillen	1

Opmerking: het laboratorium dat Gram negatieve bacillen antwoordde, heeft ons nadien laten weten dat het een overschrijffout betrof.



IV. ANTIBIOGRAM

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

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

4.1. Cultuur M/4438 (*Haemophilus influenzae*)

Aantal deelnemers = 183

Voor *H. influenzae* werd enkel het resultaat van de β -lactamase test gevraagd. Deze stam was β -lactamase positief.

U vindt de resultaten van de enquête hieronder:

Positief : 177 (96.7%)
Negatief : 5
Geen antwoord : 1

4.2 Cultuur M/4040 (*Escherichia coli*)

Aantal deelnemers = 180

De beide laboratoria die verklaarden hemoculturen niet te behandelen, voerden uiteraard geen antibiogram uit; 1 firma-laboratorium voerde enkel de identificatie uit op dit staal maar geen antibiogram.

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

Tabel 4.2.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/4040 (*E. coli*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	I	R	*
Ampicilline	R	174	5	73	96	-
Amoxicilline ¹	R	4	-	-	4	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	I	180	57	109	14	-
Amikacine	S	174	171	2	-	1 ²
Gentamicine	S	159	158	1	-	-
Cefuroxime	S	177	173	2	1	1 ³
Cefotaxime	S	152	151	-	-	1 ²
Ceftriaxone ⁴	S	9	9	-	-	-
Ceftazidime ⁵	S	1	1	-	-	-
Co-trimoxazole	S	179	177	-	-	2 ^{6,7}
Imipenem	S	76	74	-	-	2 ^{2,7}
Meropenem ⁸	S	52	52	-	-	-
Chinolones						
Ciprofloxacin	S	129	129	-	-	-
Levofloxacin	S	27	27	-	-	-
Norfloxacin	S	13	13	-	-	-
Ofloxacin	S	20	20	-	-	-
Oxolinezuur	S	1	1	-	-	-
«Chinolone» ⁹	S	5	5	-	-	-

- ¹ Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor amoxicilline in plaats van voor ampicilline.
- ² Eén laboratorium antwoordde wel het ruw resultaat (telkens «S») voor amikacine, cefotaxime en imipenem, maar liet het finale resultaat open.
- ³ Eén laboratorium antwoordde dat cefuroxime sodium (parenteraal) gevoelig is maar cefuroxime axetil (oraal) intermediair.
- ⁴ Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor ceftriaxone in plaats van voor cefotaxime.
- ⁵ Eén laboratorium laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor ceftazidime in plaats van voor cefotaxime.
- ⁶ Eén laboratorium antwoordde wel het ruw resultaat («S») voor co-trimoxazole maar liet het finale resultaat open.
- ⁷ Eén laboratorium antwoordde wel het finale resultaat voor co-trimoxazole en imipenem, maar vermeldde dat deze antwoorden in routine niet doorgegeven worden op het protocol.
- ⁸ Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor meropenem in plaats van voor imipenem.
- ⁹ 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.

De resultaten van de laboratoria die de Osiris gebruikt hebben om de diameters van de papieren schijfjes af te lezen vindt u in tabel 4.2.8.

Tabel 4.2.2. Bekomen diameters met de papieren schijfjes volgens CLSI voor staal M/4040 (*E. coli*).

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	21 (28)	10	10	6 - 14	-	2	26	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	20 (26)	20+10	16	8 - 20	8	14	4	-
Amikacine	20 (26)	30	20	16- 29	25	1	-	-
Gentamicine	17 (22)	10	20	16 - 25	22	-	-	-
Cefuroxime	21 (27)	30	23	17 - 27	24	1	1	¹
Cefotaxime	19 (26)	30	31	26 - 40	26	-	-	-
Ceftazidime	1 (1)	30	32	32 - 32	1	-	-	-
Co-trimoxazole	22 (28)	1,25+23,75	26	21 - 34	28	-	-	-
Imipenem	9 (11)	10	30	26 - 33	11	-	-	-
Meropenem	4 (7)	10	30,5	26 - 42	7	-	-	-
Chinolones								
Ciprofloxacin	13 (17)	5	35	25 - 41	17	-	-	-
Levofloxacin	5 (7)	5	36	30 - 38	7	-	-	-
Norfloxacin	1 (1)	10	30	30 - 30	1	-	-	-
Ofloxacin	3 (3)	5	26	25 - 34	3	-	-	-

¹ Eén laboratorium antwoordde dat cefuroxime sodium (parenteraal) gevoelig is maar cefuroxime axetil (oraal) intermediair.

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/4040 (*E. coli*).

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	R
Ampicilline	30 (38)	33	16,5	9 - 20	5	12	21
Amoxicilline	3 (3)	30	12	10 - 12	-	-	3
Amoxicilline-clavulaanzuur	36 (41)	30+15	21	11 - 27	28	9	4
Amikacine	33 (36)	40	25	20 - 31	36	-	-
Gentamicine ¹	25 (30)	40	26	20 - 33	29	1	-
Cefuroxime ¹	32 (37)	60	27	23 - 36	36	1	-
Cefotaxime ¹	21 (26)	30	34	22 - 43	26	-	-
Ceftriaxone	6 (6)	30	32,5	30 - 37	6	-	-
Co-trimoxazole ¹	31 (36)	5,2+240	38	26 - 42	36	-	-
Imipenem	18 (23)	15	32,5	22 - 36	23	-	-
Meropenem	9 (10)	10	34	30 - 37	10	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	21 (22)	10	33	28 - 42	22	-	-
Levofloxacin	4 (5)	5	39,5	34 - 43	5	-	-
Norfloxacin	1 (2)	10	32	32 - 32	2	-	-
Ofloxacin	7 (7)	10	30	30 - 38	7	-	-
Oxolinezuur	1 (1)	10	26	26 - 26	1	-	-
Chinolone ¹	1 (2)	10	29	29 - 29	2	-	-

¹ Tevens antwoordde één laboratorium: > 30 mm voor elk van deze antibiotica.

Tabel 4.2.3.b. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (CLSI ladingen) voor staal M/4040 (*E. coli*).

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	R
Ampicilline	4 (5)	10	12	11 - 12	-	-	5
Amoxicilline-clavulaanzuur	5 (6)	20+10	19	17 - 23	3	3	-
Amikacine	5 (6)	30	22	19 - 27	6	-	-
Gentamicine	4 (4)	10	22	20 - 26	4	-	-
Cefuroxime	5 (6)	30	25	23 - 33	6	-	-
Cefotaxime	3 (3)	30	36	35 - 40	3	-	-
Ceftriaxone	1 (1)	30	36	36 - 36	1	-	-
Co-trimoxazole	5 (6)	1,25+23,75	30	26 - 40	6	-	-
Imipenem	1 (2)	10	31	31 - 31	2	-	-
Meropenem	2 (2)	10	36	34 - 38	2	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	3 (4)	5	40	30 - 43	4	-	-
Ofloxacin	2 (2)	5	34	33 - 35	2	-	-

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

Tabel 4.2.4. Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor staal M/4040 (*E. coli*).

	Aantal resultaten	<0.031	0.031	0.062	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	S	I	R
		-	0.062	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	128			
Ampicilline	4											2	2	-	1	3
Amoxicilline-clavulaanzuur	4									1	1	1	1	1	2	1
Amikacine	3							1	2					3	-	-
Gentamicine	4						1	3						4	-	-
Cefuroxime	2								1	1				2	-	-
Cefotaxime	4			2	1		1							4	-	-
Co-trimoxazole	2			1	1									2	-	-
Imipenem	1					1								1	-	-
Chinolones																
Ciprofloxacine	3	2	1											3	-	-

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/4040 (*E. coli*).

Antibioticum	Vitek 2						Vitek 2 compact					
	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/l)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermelde (Totaal aantal gebruikers)	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/l)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermelde (Totaal aantal gebruikers)		
	S	I	R			S	I	R			*	
Ampicilline	-	46	15	16	50 (61)	-	15	6	-	16	13 (21)	
Amoxicilline-clavulaanzuur	1	57	4	16	54 (62)	-	18	2	-	16	16 (20)	
Amikacine	60	-	-	≤ 2	39 (60)	19	-	-	1 ¹	≤ 2	16 (20)	
Gentamicine	61	-	-	≤ 1	55 (61)	20	-	-	-	≤ 1	16 (20)	
Cefuroxime	62	-	-	4	53 (62)	21	-	-	-	4	16 (21)	
Cefotaxime	62	-	-	≤ 1	55 (62)	20	-	-	1 ¹	≤ 1	17 (21)	
Co-trimoxazole	62	-	-	≤ 20	55 (62)	20	-	-	1 ²	≤ 20	16 (21)	
Imipenem	14	-	-	≤ 0.25	4 (14)	7	-	-	1 ¹	≤ 0.25	3 (8)	
Meropenem	24	-	-	≤ 0.25	20 (24)	5	-	-	-	≤ 0.25	5 (5)	
Chinolones												
Ciprofloxacine	48	-	-	≤ 0.25	44 (48)	18	-	-	-	≤ 0.25	14 (18)	
Levofloxacine	9	-	-	≤ 0.25	8 (9)	2	-	-	-	≤ 0.25	1 (2)	
Norfloxacine	4	-	-	≤ 0.5	2 (4)	2	-	-	-	≤ 0.5	1 (2)	
Ofloxacine	3	-	-	≤ 0.25	2 (3)	3	-	-	-	≤ 0.25	3 (3)	
«Chinolone»	2	-	-	≤ 0.25	2 (2)	-	-	-	-	-	-	

¹ Eén laboratorium antwoordde wel het ruw resultaat (telkens «S») voor amikacine, cefotaxime en imipenem, maar liet het finale resultaat open.

² Eén laboratorium antwoordde wel het ruw resultaat («S») voor co-trimoxazole maar liet het finale resultaat open.

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

- voor ampicilline vonden zowel voor Vitek 2 als voor Vitek 2 compact telkens 4 laboratoria een MIC \geq 32 mg/l
- voor amoxicilline-clavulaanzuur vond 1 deelnemer een MIC van 12 mg/l met Vitek 2
- voor amikacine vonden 15 deelnemers een MIC \leq 4 mg/l met Vitek 2
- voor cefuroxime vond 1 deelnemer een MIC van 2 mg/l en 1 deelnemer een MIC \leq 1 mg/l met Vitek 2; met Vitek 2 compact vond 1 deelnemer een MIC van 2 mg/l
- voor co-trimoxazole vond 1 deelnemer een MIC \leq 2 mg/l met Vitek 2 compact
- voor imipenem vond 1 deelnemer een MIC \leq 1 mg/l met Vitek 2; met Vitek 2 compact vond 1 deelnemer een MIC $<$ 1 mg/l
- voor meropenem vond 1 deelnemer een MIC van 8 mg/l en 1 deelnemer een MIC \leq 16 mg/l met Vitek 2

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

Tabel 4.2.6. Resultaten bekomen met de ATB methode voor staal M/4040 (*E. coli*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Ampicilline	-	-	8
Amoxicilline	-	-	1
Amoxicilline-clavulaanzuur	5	5	-
Amikacine	10	-	-
Gentamicine	10	-	-
Cefuroxime	9	-	-
Cefotaxime	10	-	-
Co-trimoxazole	10	-	-
Imipenem	11	-	-
Chinolones			
Ciprofloxacin	8	-	-
Levofloxacin	1	-	-
Norfloxacin	3	-	-

Eén laboratorium vermeldde dat het voor het uitvoeren van de ATB methode gebruik maakte van de Mini Api.

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.2.7.

Tabel 4.2.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/4040 (*E. coli*).

Antibioticum	Resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/l)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermelde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Ampicilline	-	6	2	16	8 (8)
Amoxicilline-clavulaanzuur	-	8	-	16/8	8 (8)
Amikacine	8	-	-	4	4(8)
Gentamicine	6	-	-	≤ 2	6 (6)
Cefuroxime	8	-	-	≤ 4	8 (8)
Cefotaxime	2	-	-	≤ 2	2 (2)
Ceftriaxone	1	-	-	≤ 2	1 (1)
Co-trimoxazole	8	-	-	≤ 0.5/9.5	8 (8)
Imipenem	1	-	-	<1	1 (1)
Meropenem	3	-	-	≤ 1	3 (3)
Chinolones					
Ciprofloxacin	7	-	-	≤ 0.125	4 (7)
Levofloxacin	1	-	-	≤ 1	1 (1)

Voor bepaalde antibiotica hebben sommige laboratoria een andere MIC-waarde aangegeven dan de meest vermelde:

- voor amikacine vermelden 2 laboratoria een MIC ≤2 mg/l en 2 laboratoria een MIC ≤8 mg/l
- voor ciprofloxacin vermelden 2 laboratoria een MIC ≤0.5 mg/l en 1 laboratorium een MIC ≤0.13 mg/l

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/4040 (*E. coli*).

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	9	6 - 12	-	-	8
Amoxicilline-clavulaanzuur	8 (8)	20+10	18	15 - 20	7	1	-
Amikacine	7 (7)	30	23	19 - 25	7	-	-
Gentamicine	3 (3)	10	25	22 - 28	3	-	-
Cefuroxime	7 (7)	30	23	19 - 27	7	-	-
Cefotaxime	5 (5)	30	31	25 - 35	5	-	-
Co-trimoxazole	7 (8)	1,25+23,75	24	22 - 31	8	-	-
Imipenem	3 (3)	10	30	30 - 35	3	-	-
Meropenem	3 (3)	10	35	35 - 35	3	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	5 (5)	5	35	31 - 35	5	-	-
Levofloxacin	3 (3)	5	35	30 - 35	3	-	-
Norfloxacin	1 (1)	10	29	29 - 29	1	-	-
Ofloxacin	1 (1)	5	28	28 - 28	1	-	-

Tabel 4.2.9.a. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (Neosensitabs ladingen) voor staal M/4040 (*E. coli*).

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	18	16 - 19	-	2	6	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	7 (8)	30+15	21	20 - 23	8	-	-	-
Amikacine	7 (8)	40	26	21 - 30	8	-	-	-
Gentamicine	6 (6)	40	29	25 - 34	6	-	-	-
Cefuroxime	7 (8)	60	27	24 - 30	8	-	-	-
Cefotaxime	3 (4)	30	37	36 - 39	4	-	-	-
Ceftriaxone	1 (1)	30	28	28 - 28	1	-	-	-
Co-trimoxazole	7 (8)	5,2+240	36	32 - 39	7	-	-	1 ¹
Imipenem	1 (2)	15	38	38 - 38	1	-	-	1 ¹
Meropenem	2 (3)	10	31,5	27 - 36	3	-	-	-
Chinolones								
Ciprofloxacin	4 (5)	10	37	35 - 40	5	-	-	-
Levofloxacin	1 (1)	5	38	38 - 38	1	-	-	-
Ofloxacin	2 (2)	10	30	22 - 38	2	-	-	-

¹ Eén laboratorium antwoordde wel het finale resultaat voor co-trimoxazole en imipenem, maar vermeldde dat deze antwoorden in routine niet doorgegeven worden op het protocol.

Tabel 4.2.9.b. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (CLSI ladingen) voor staal M/4040 (*E. coli*).

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	R
Ampicilline	2 (2)	10	13.5	11 - 16	-	-	2
Amoxicilline-clavulaanzuur	3 (3)	20+10	20	16 - 23	2	1	-
Amikacine	3 (3)	30	27	22 - 29	2	1	-
Gentamicine	2 (3)	10	25.5	25 - 26	3	-	-
Cefuroxime	3 (3)	30	23	20 - 26	3	-	-
Cefotaxime	3 (3)	30	35	35 - 43	3	-	-
Co-trimoxazole	2 (2)	1,25+23,75	30.5	26 - 35	2	-	-
Imipenem	2 (2)	10	35.5	28 - 43	2	-	-
Meropenem	1 (1)	10	34	34 - 34	1	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	1 (1)	5	30	30 - 30	1	-	-
Levofloxacin	1 (1)	5	38	38 - 38	1	-	-
Chinolone	1 (1)	5	37	37 - 37	1	-	-

Tot slot dient vermeld dat 1 (buitenlands) laboratorium de gevoeligheid voor het volledige antibiotica-paneel bepaalde met Microscan walkaway

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

- Ampicilline
 - ♣ I => R
 - Rosco (Neosensitabs ladingen): 4 labo's
 - Sirscan (Neosensitabs ladingen): 5 labo's (waarvan 1 mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken)
 - Sirscan (Neosensitabs ladingen): 1 labo
 - E-test: 1 labo (mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken)
 - Phoenix: 2 labo's (mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken)
 - Vitek 2: 7 labo's (waarvan 3 mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken)
 - Vitek 2 compact: 2 labo's
- Amoxicilline-clavulaanzuur
 - ♣ S => I
 - Rosco (Neosensitabs ladingen): 2 labo's
 - Rosco (CLSI ladingen): 1 labo (mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken)
 - ♣ I => R
 - Rosco (Neosensitabs ladingen): 3 labo's
 - Vitek 2: 3 labo's (waarvan 1 mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken)
 - Vitek 2 compact: 2 labo's

- ♣ I => S
 - Vitek 2: 1 labo (met «S» als resultaat voor een andere techniek)

- Amikacine
 - ♣ S => I
 - Sirscan (CLSI ladingen): 1 labo
 - ♣ I => geen antwoord
 - Vitek 2 compact: 1 labo

- Cefotaxime
 - ♣ S => geen antwoord
 - Vitek 2 compact: 1 labo

- Co-trimoxazole
 - ♣ S => geen antwoord
 - Vitek 2 compact: 1 labo

- Imipenem
 - ♣ S => geen antwoord
 - Vitek 2 compact: 1 labo

V. PARASITOLOGIE

5.1. De monsters

Ter gelegenheid van deze enquête werden 2 bloeduitstrijkjes verzonden. Voor staal P/8046 hebben 181 laboratoria een antwoord ingestuurd; voor staal P/8060 hebben 182 laboratoria dit gedaan.

Wij willen erop aandringen dat u steeds voor alle stalen een antwoord zou insturen, ook bvb. bij vermoeden van afwezigheid van parasieten.

Het aantal toolkit gebruikers bedroeg 58.8%. Wij zouden willen vragen om zoveel mogelijk van deze antwoordmogelijkheid gebruik te maken. Bovendien een snellere verwerking, biedt de toolkit tevens het voordeel dat een aantal fouten vermeden kunnen worden: schrijffouten, gebruik van oudere codes, encodagefouten,...

De stalen waren vergezeld van volgende klinische informatie:

Staal P/8046:

«Een Amerikaanse patiënte (° 25/08/1940) uit Stillwater is voor een korte periode met vakantie in België. Ze had reeds koorts toen ze vertrok uit de Verenigde Staten. Bij laboratorium onderzoek vindt men een trombopenie (84.000/ μ l), leukopenie (3000/ μ l) en een anemie (hemoglobine 9.4 g/dl) en een CRP van 20 mg/dl. Tijdens het verblijf in België heeft ze hectische hoge koorts.»

Staal P/8060:

«Een 41-jarige man wordt 1 week na zijn terugkeer van een reis naar Kenia opgenomen met hoge koorts. Het is onduidelijk of hij profylaxe genomen heeft.»

Staal P/8046 bevatte trofozoïeten van *Babesia species*.

Staal P/8060 bevatte geen parasieten.

Wij willen herhalen dat u, ingeval van twijfel of beschadiging van een staal, in de loop van een enquête steeds een 2^e staal mag vragen.

5.2. Resultaten

5.2.1 Staal P/8046

180 laboratoria antwoordden één parasiet en 1 laboratorium antwoordde «afwezigheid van parasieten».

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.2.1.1. Resultaten voor staal P/8046

Resultaat	Aantal
<i>Babesia species</i>	107
<i>Babesia species</i> of <i>Plasmodium species</i>	3
<i>Plasmodium species</i>	26
<i>Plasmodium falciparum</i>	27
<i>Plasmodium vivax</i>	10
<i>Plasmodium ovale</i>	3
<i>Plasmodium malariae</i>	2
<i>Plasmodium non-falciparum</i>	1
<i>Naegleria fowleri</i>	1
Afwezigheid van parasieten	1
Totaal	181

Het antwoord «Afwezigheid van parasieten» is niet te wijten aan een staalverwisseling; dit laboratorium vond immers beide stalen negatief. Het antwoord *Naegleria fowleri* is mogelijk 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

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.

Naast de laboratoria die «*Babesia species* of *Plasmodium species*» geantwoord hebben, vermeldden ook meerdere laboratoria die «*Babesia species*» antwoordden, dat een differentiële diagnose met «*Plasmodium species*» noodzakelijk is en/of dat het staal in routine naar het referentiecentrum gestuurd zou worden voor bevestiging van de diagnose. Enkele laboratoria hebben eveneens vermeld dat de geografische lokalisatie van de patiënte (Verenigde Staten) een rol gespeeld heeft in hun besluitvorming (malaria komt immers niet voor in de VS).

Enkele laboratoria die een *Plasmodium* geantwoord hebben, hebben tevens vermeld dat *Babesia* uitgesloten diende te worden. Ook hier vermeldden meerdere labos dat in routine het staal naar het referentiecentrum verstuurd zou worden voor confirmatie en/of species-identificatie.

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Babesia* species worden in volgende tabel weergegeven. 3 laboratoria hebben 2 verschillende evolutiestadia geantwoord.

Tabel 5.2.1.2. Evolutiestadia voor *Babesia* species voor staal P/8046

Evolutiestadium	Aantal
Trofozoïet	95
Niet gepreciseerd	5
Gametocyt	3
Volwassen vorm	2
Sporocyste	2
Jonge schizont	1
Merozoïet	1
Extracellulaire vormen	1
Totaal	110

Niet alle laboratoria vermeldden het aantal waargenomen parasieten. Het aantal waargenomen parasieten voor de trofozoïeten voor *Babesia* species in staal P/8046 wordt weergegeven in tabel 5.2.1.3.

Tabel 5.2.1.3. Mediaan, minimum en maximum voor trofozoïeten van *Babesia* species voor staal P/8046 (uitgedrukt in ‰).

Aantal labos	Mediaan	Minimum	Maximum
52	3	1	15

Tevens antwoordden 17 laboratoria <1, 1 laboratorium <5, 9 laboratoria 1 à 2, 2 antwoordden 2 à 3, 8 antwoordden 3 à 4 en 1 antwoordde 5 à 10; 4 gaven geen aantal weer.

5.3. Commentaar op de enquête

De parasiet die aanwezig was in staal P 8046 was een *Babesia microti* waarvan de identificatie bevestigd werd met moleculaire biologie.

181 laboratoria gaven een antwoord voor dit staal en 107 (59.12 %) hebben de parasiet correct geïdentificeerd.

Onder de foutieve antwoorden was het meest frequente *Plasmodium falciparum* (27 antwoorden, 14.92 % van de labo's), waarmee *Babesia* het vaakst verward wordt. De trofozoïeten van deze beide protozoa vertonen inderdaad morfologische gelijkenissen (Cf. tabel 1). In totaal hebben 69 laboratoria (38.12 %) de aanwezigheid van een species van *Plasmodium* geantwoord en 3 onder hen hebben vermeld dat de differentiële diagnose tussen *Plasmodium* en *Babesia* moet uitgevoerd worden.

Babesia is een protozoön uit de orde van de *Piroplasmida* waarvan een tiental pathogene species bestaan voornamelijk bij de dieren (*B. bovis*, *B. canis*, *B. caballi*, *B. divergens*, *B. gibsoni*, ...) maar er wordt meer en meer ook een besmetting van de mens vastgesteld met name door *B. divergens*.

In onze streken is de babesiose of piroplasmose een ziekte die goed gekend is door dierenartsen en door laboratoria die diergeneeskundige analyses uitvoeren. Ze tast voornamelijk runderen en honden aan.

De cyclus gaat langs een gewervelde intermediaire gastheer en een ongewervelde gastheer (teek), het is in deze laatste dat de seksuele reproductie plaatsgrijpt.

De infectie is bepaald door de geografische lokalisatie van de vectorteek, de omgeving (struiken, hoog gras, hagen) en het klimaat (de metabole activiteit van de teken neemt toe met de temperatuur).

De specifiek humane aandoening wordt voornamelijk veroorzaakt door *Babesia microti* (in de USA) en *B. divergens* (in Europa).

De symptomen (Cf. tabel 2) lijken vrij sterk op deze van malaria maar in de USA waar babesiose endemisch is, is er meestal geen sprake van een reis naar een land met een hoge malaria-prevalentie in de anamnese van de patiënt. Dit was eveneens het geval bij de patiënt van deze EKE, een gegeven dat sommige biologen opgemerkt hebben en gebruikt hebben in het opstellen van hun diagnose. Desondanks kan de diagnose van malaria nooit volledig uitgesloten worden want verschillende landen, waaronder de Verenigde Staten, rapporteren jaarlijks gevallen van hetzij importmalaria, hetzij lokaal verworven malaria door geïnfecteerde muggen

Hoewel letaal in 5% van de gevallen, herstelt de babesiose door *B. microti* meestal spontaan; er bestaan eveneens asymptomatische dragers. Verschillende Europese studies daarentegen wijzen op een meer zeldzame aandoening (door *B. divergens*) die een veel ernstiger verloop kent en een mortaliteit heeft die 42% bereikt. Deze aandoening die een bruuske aanvang kent, verloopt vaak fulminant vooral bij immuungedepriëerde patiënten of na splenectomie.

Aangezien deze parasiet overgebracht wordt door dezelfde teken die *Borrelia burgdorferi* en *Ehrlichia* spp. overbrengen, zijn er co-infecties beschreven.

Overigens zijn er eveneens verschillende gevallen van transmissie door bloedtransfusie vermeld.

De diagnose is hoofdzakelijk gebaseerd op het aantonen van de parasiet in een uitstrijkje of een dikdruppel na Giemsa kleuring.

De serologie vertoont jammer genoeg kruisreacties tussen de verschillende species van *Babesia* en met verschillende species van *Plasmodium*. Bovendien werden vals positieve reacties beschreven bij patiënten met auto-immuun aandoeningen en vals negatieve bij immuungedepriëerde patiënten of bij het begin van de infectie.

Tot nu toe bestaat er nog geen commerciële nucleaire amplificatietest; de voorgestelde PCR zijn steeds «in house» testen.

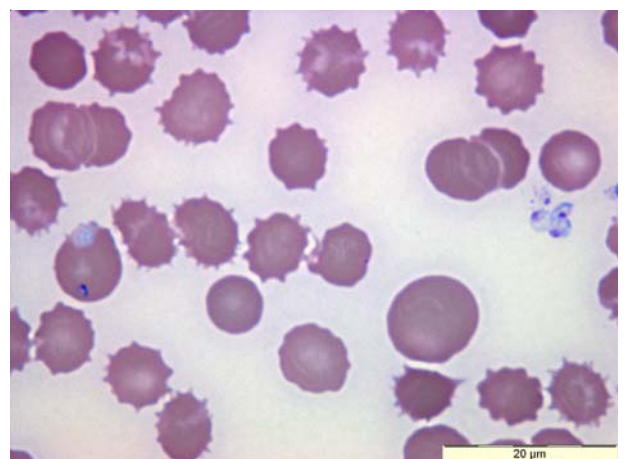
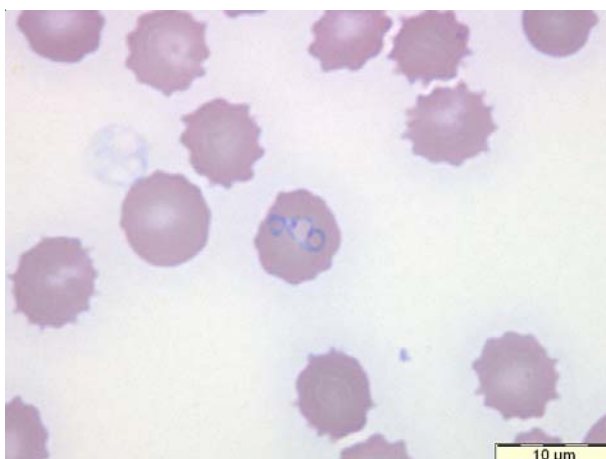
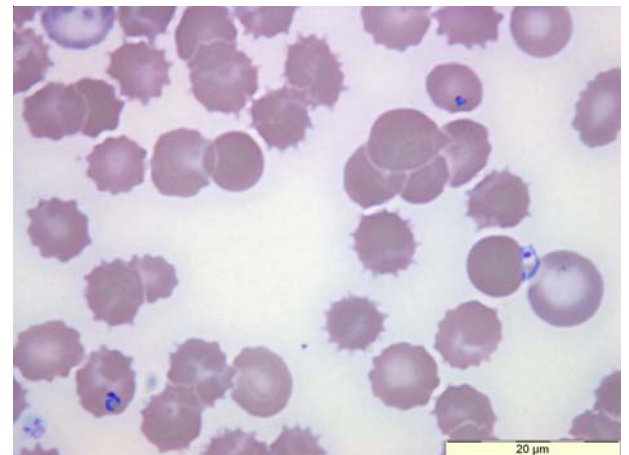
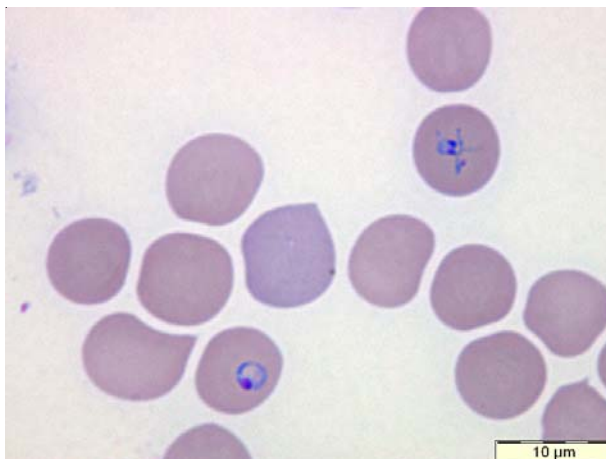
Tabele 1

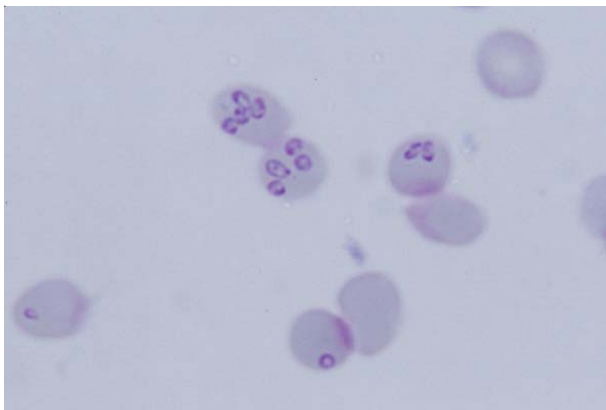
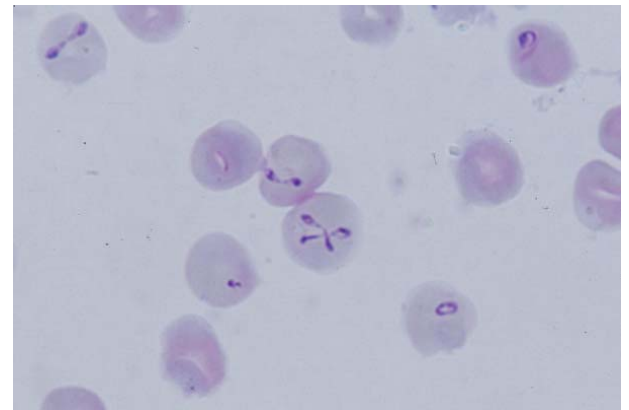
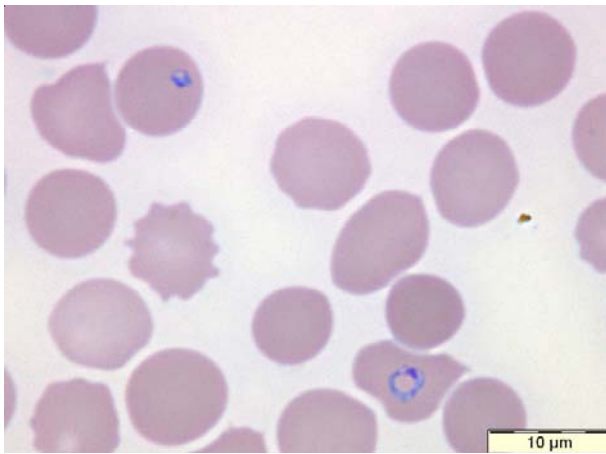
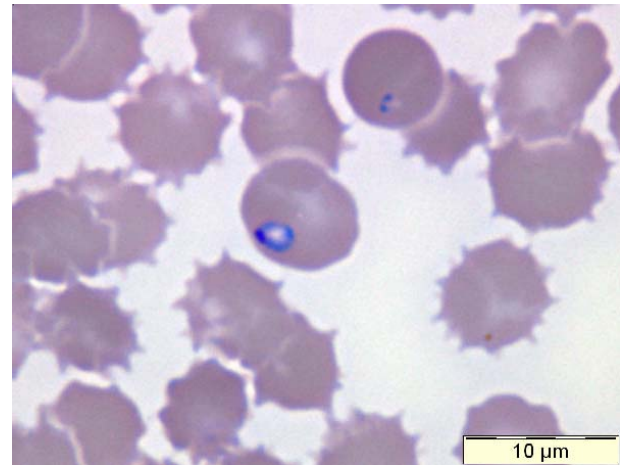
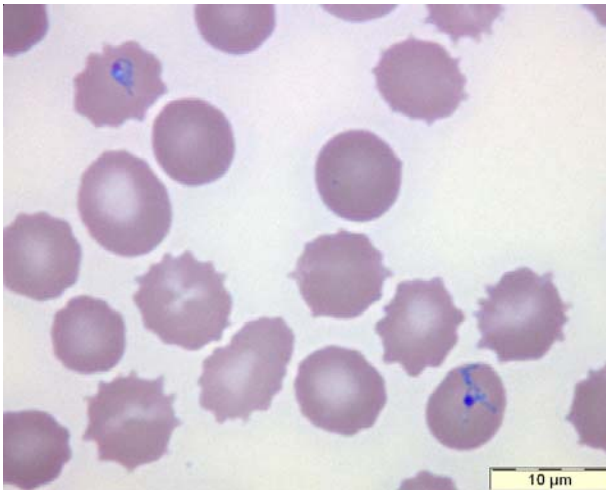
	<i>Babesia</i> spp.	<i>Plasmodium falciparum</i>
Geografische verdeling	Endemisch in de USA Aanwezig in Europa en in Japan	Afrika, Azië, Zuid-Amerika
Vector	Teken (diverse <i>Ixodes</i> en ook andere teken naargelang het <i>Babesia</i> species)	Mug: <i>Anopheles</i>
Aspect van de jonge trofozoïet	Weinig cytoplasma Zeër kleine kern	Weinig cytoplasma Zeër kleine kern
Aspect van de oude trofozoïet	Soms ≥ 2 chromatinestippen. Pleomorf aspect. Soms parasieten buiten de RBC.	Soms ≥ 2 chromatinestippen/ parasiet.
Geobserveerde stadia	Geen ander stadium dan trofozoïet.	Voornameijk trofozoïeten maar ook gametocyten.
Aantal parasieten per RBC	Vaak > 1 parasiet / RBC. Soms typisch aspect onder vorm van kruis van Malta	Vaak > 1 parasiet / RBC. Geen tetraden.
Grootte	1 à 2.5 μm voor <i>B. microti</i> . Tot 5 μm voor de andere species	1.4 à 2.5 μm voor <i>P. falciparum</i>
Parasitemie	Vaak hoog	Vaak hoog
Geparasiteerde RBC	Geen verhoogd volume Geen korreling of pigmentatie	Geen verhoogd volume Geen korreling of pigmentatie

Tabel 2: Voornaamste tekens en symptomen

	<i>B. microti</i>	<i>B. divergens</i>
Incubatieduur	1 tot 6 weken (tot 3 maanden)	1 tot 3 weken
Symptomen	Meestal gematigd «malaise» Koorts en rillingen Uitgebreide transpiratie Artralgieën en myalgieën Vermoeidheid en zwakte	Meestal ernstig met een brutaal verschijnen Koorts en rillingen Verwardheid Shock
Klinische en biologische tekens	Hepatosplenomegalie Hemolytische anemie	Icterus Hemolyse Nierinsufficiëntie Hemoglobinurie

U vindt hieronder enkele foto's van *Babesia* die zoals gewoonlijk door onze collega Marc Lontie gemaakt zijn. Het betreft zowel fotos van dit staal (1 - 7) als archieffotos (8-9).





Anne Dediste
Laboratoire de microbiologie des
CHU St-Pierre et Institut J. Bordet

REFERENTIES

1. **Garcia L.** Diagnostic Medical Parasitology. ASM Press, Washington. 5th ed.2007; Chap7.
2. **Genchi C.** Human babesiosis, an emerging zoonosis. Parassitologia. May2007; 49 Suppl 1:29-31.
3. **Meliani P. et al.** Babésiose humaine. Med Mal Infect. 2006;36(10):499-504.
4. **Zintl A. et al.** *Babesia divergens*, a bovine blood parasite of veterinary and zoonotic importance. CMR. 2003;16:622-636.
5. **Robert L.L. et al.** *Plasmodium*-infected *Anopheles* mosquitoes collected in Virginia and Maryland following local transmission of *plasmodium vivax* malaria in Loudoun County, Virginia. J Am Mosq Control Assoc, June 1, 2005;21(2): 187-93.

5.2.2

Staal P/8060

179 laboratoria antwoordden «afwezigheid van parasieten» en 3 laboratoria antwoordden één parasiet.

De antwoorden worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.2.2.1. Antwoorden voor staal P/8060

Parasiet	Aantal
Afwezigheid van parasieten	179
<i>Trypanosoma brucei</i>	2
<i>Loa loa</i>	1
Totaal	182

Dit staal was, in samenspraak met de leden van het expertencomité, bewust gemaakt van een iets ouder bloedstaal. De bedoeling was niet zozeer om het moeilijker te maken voor de laboratoria, dan wel net om hen aandachtig te maken voor de bijkomende moeilijkheidsgraad die een dergelijk staal kan bieden.

VI. SEROLOGIE

6.1 Beschrijving van de monsters

Er waren 2 gelyofiliseerde plasmamonster, S/7800 en S/7801 waarop antistoffen tegen CMV en EBV bepaald dienden te worden. De interpretatie omvatte een gelijktijdige beoordeling van EBV en CMV.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen :

S/7801 : Een patiënt heeft koorts en gestoorde levertesten. Het staal voor de EKE is afgenomen 2 weken na de eerste klachten.

S/7800: Het laboratorium-onderzoek van de echtgenote van patiënt S/7801 vertoont eveneens gestoorde levertesten; zij heeft echter geen koorts. Het staal voor de EKE is afgenomen 1 maand nadat na de gestoorde levertesten voor het eerst vastgesteld werden.

Voor CMV waren voor beide stalen de verwachte resultaten waren: IgG positief, IgM positief.

Voor EBV waren voor beide stalen de verwachte resultaten waren: IgG positief, IgM negatief.

Voor beide stalen was de verwachte interpretatie was: «Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie ».

6.2. EBV

6.2.1. De deelnemers

164 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 494 testen uit op staal S/7800 en 501 testen op staal S/7801.

Op staal S/7800 voerden 4 laboratoria 1 test uit, 44 laboratoria 2 testen, 74 laboratoria 3 testen, 32 laboratoria 4 testen, 8 laboratoria 5 testen en 2 laboratoria 6 testen.

Op staal S/7801 voerden 4 laboratoria 1 test uit, 42 laboratoria 2 testen, 71 laboratoria 3 testen, 37 laboratoria 4 testen, 8 laboratoria 5 testen en 2 laboratoria 6 testen.

In volgende tabellen 6.2.1 en 6.2.2 worden respectievelijk het totaal aantal uitgevoerde testen voor de verschillende parameters weergegeven en een overzicht van de combinaties van parameters die de laboratoria uitgevoerd hebben.

Nota: enkele technieken laten toe om tegelijkertijd verschillende parameters te bepalen en ook afzonderlijk te rapporteren; het betreft de EUROLINE: EBV-Profil 2 (die toelaat VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EBNA IgM, EA IgG en EA IGM te bepalen), Immuno Dot Mono-G (die toelaat VCA IgG en EBNA IgG te bepalen) en Immuno Dot Mono-M (die toelaat heterofiele antistoffen en VCA IgM te bepalen). Om reden van vereenvoudiging werden deze testen in deze en volgende tabellen telkens bij de afzonderlijke parameters behandeld.

De Enzygnost anti-EBV IgG en IgM kits geven daarentegen een globale appreciatie van de IgG, respectievelijk IgM.

Tabel 6.2.1. Aantal deelnemers verdeeld per parameter

Parameter	Aantal labo's	
	S/7800	S/7801
Heterofiele AS	101	102
VCA IgG	121	121
VCA IgM	134	136
EBNA IgG	76	80
EBNA IgM	2	2
EA IgG	12	12
EA IgM	3	3
Totale IgG	22	22
Totale IgM	23	23
Totaal	494	501

Tabel 6.2.2. Combinaties van testen uitgevoerd door de deelnemers

Aantal testen	Parameter	S/7800	S/7801
1 test	Heterofiele AS	4	4
2 testen	VCA IgG + VCA IgM	25	23
	EBNA IgG + VCA IgM	6	6
	EBNA IgG + EBNA IgM	1	1
	Totale IgG + Totale IgM	7	7
	Heterofiele AS + VCA IgM	3	3
	Heterofiele AS + EBNA IgG	1	1
	VCA IgG + EBNA IgG	1	1
3 testen	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	18	18
	Totale IgG + Totale IgM + EBNA IgG	1	1
	VCA IgG + VCA IgM + heterofiele AS	35	32
	Totale IgG + Totale IgM + heterofiele AS	13	13
	EBNA IgG + VCA IgM + heterofiele AS	5	5
	EBNA IgG + Totale IgM + heterofiele AS	1	1
	EBNA IgG + EA IgM + heterofiele AS	1	1
4 testen	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + heterofiele AS	28	31
	Totale IgG + Totale IgM + EBNA IgG + heterofiele AS	1	1
	VCA IgG + VCA IgM + EA IgG + heterofiele AS	1	1
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	2	2
	VCA IgG + 2 VCA IgM + EBNA IgG	-	1
	VCA IgG + 2 VCA IgM + heterofiele AS	-	1
5 testen	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG+ heterofiele AS	7	7
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG+ EA IgM	1	1
6 testen	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EBNA IgM + EA IgG+ EA IgM	1	1
	2 VCA IgG + 2 VCA IgM + EBNA IgG + heterofiele AS	1	1

6.2.2. Gebruikte reagentia

6.2.2.1. Heterofiele antistoffen

Tabel 6.2.3. Reagentia gebruikt ter bepaling van de heterofiele antistoffen

Fabrikant	Kit	S/7800	S/7801
Alldiag	MNITOP	1	1
Biognost	Niet gepreciseerd	1	1
Biokit	Monolatex	14	14
BMD	Immuno Dot Mono-M	3	3
	Monocol	3	3
Dipromed	Mononucleose	1	1
Fumouze	MNI-test Mononucleose	7	7
Meridian	Monospot	4	4
	Monospot Latex	3	3
Microgen	Infectious Mononucleosis Screening Reagent	1	1
Oxoïd	Infectious Mononucleosis Test	1	1
Servibio	Servitex MNI	1	1
Stanbio	Rapet IM	5	5
Unipath (verdelers oxoïd)	Clearview IM	51	51
Niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd	5	6
Totaal		101	102

6.2.2.2. IgG

Tabel 6.2.4. Reagentia gebruikt ter bepaling van de VCA EBV IgG

Fabrikant	Kit	S/7800	S/7801
Adaltis	VCA IgG	1	1
Alphadia	EBV IgG Elisa	1	1
bioMérieux	Vironostika EBV-VCA IgG	1	1
Biotest	Anti-EBV VCA IgG Elisa	3	3
BMD	Immuno Dot Mono-G	5	5
	Elisa EBV VCA IgG	3	3
Dade Behring	Novagnost anti EBV IgG	1	1
DiaSorin	Liaison VCA IgG	48	48
	ETI-VCA-G	2	2
Diesse	Chorus Epstein Barr VCA IgG	4	4
Euroimmun	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgG Elisa	20	20
	EUROLINE: EBV-Profil 2	1	1
Focus	EBV VCA IgG IFA	3	3
	Epstein-Barr Virus VCA IgG	1	1
Hycor Biomedical	EBV VCA IgG	1	1
Immunoconcepts	EBV VCA IgG IFA	1	1
Meridian	Merifluor EBV VCA IgG	12	12
	Premier EBV VCA IgG	5	5
Novatec	Epstein Barr Virus (VCA) IgG ELISA	2	2
Novum	EBV VCA IgG	1	1
Virion (Medigal)	Epstein-Barr virus/VCA IgG Elisa	3	3
Niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd	2	2
Totaal		121	121

Tabel 6.2.5. Reagentia gebruikt ter bepaling van de EBNA EBV IgG

Fabrikant	Kit	S/7800	S/7801
bioMérieux	Vironostika EBV-EBNA IgG	1	1
Biotest	Anti-EBV recombinant EBNA IgG Elisa	8	8
BMD	Immuno Dot Mono-G	7	7
	Elisa EBV EBNA IgG	2	2
DiaSorin	Liaison EBNA IgG	31	35
	ETI-EBNA-G	1	1
Diesse	Chorus Epstein Barr EBNA IgG	3	3
Euroimmun	Epstein Barr virus nuclear antigen (EBNA-1) IgG Elisa	13	13
	EUROLINE: EBV-Profil 2	1	1
Genbio (BMD)	EBNA-1 IgG EIA	1	1
Medac	EBV EBNA-1-IgG-ELISA PKS	2	2
Meridian	Premier EBNA IgG	2	2
Mikrogen	recomLine EBV IgG	1	1
Novum	EBV EBNA IgG	1	1
Trinity	CAPTIA Epstein Barr Virus (EBNA-1) IgG	1	1
Niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd	1	1
Totaal		76	80

Tabel 6.2.6. Reagentia gebruikt ter bepaling van de EA EBV IgG

Fabrikant	Kit	S/7800	S/7801
DiaSorin	Liaison EA IgG	7	7
Euroimmun	EBV-EA IgG Elisa	3	3
	EUROLINE: EBV-Profil 2	1	1
Meridian	Premier EA IgG	1	1
Totaal		12	12

De bepalingen van de totale IgG gebeurden met de Enzygnost anti-EBV IgG kit van Dade Behring

6.2.2.3. IgM

Tabel 6.2.7. Reagentia gebruikt ter bepaling van de EBV VCA IgM

Fabrikant	Kit	S/7800	S/7801
Adaltis	VCA IgG	1	1
Alphadia	EBV IgM Elisa	1	1
bioMérieux	Vironostika EBV-VCA IgM	1	1
Biotest	Anti-EBV VCA IgM Elisa	5	5
BMD	Immuno Dot Mono-M	5	5
	Elisa EBV VCA IgM	4	4
Dade Behring	Novagnost anti EBV IgM	1	1
DiaSorin	Liaison EBV IgM	49	48
Diesse	Chorus Epstein Barr VCA IgM	4	4
Euroimmun	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgM Elisa	22	22
	EUROLINE: EBV-Profil 2	1	1
Focus	EBV VCA IgM RIFA	6	6
	Epstein-Barr Virus VCA IgM	1	1
Genbio (BMD)	EBV VCA IgM-EIA	1	1
Hycor Biomedical	EBV VCA IgM	1	1
Immunoconcepts	EBV-VCA IgM IFA	1	1
Medac	EBV VCA-IgM-ELA Test PKS	1	1
Meridian	Merifluor EBV VCA IgM	13	15
	Premier EBV VCA IgM	7	8
Novatec (DiaSorin)	Epstein Barr Virus (VCA) IgM ELISA	3	3
Novum	EBV VCA IgM	1	1
Trinity	CAPTIA Epstein Barr Virus VCA IgM	1	1
Virion	Epstein-Barr virus/VCA IgM Elisa	3	3
Niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd	1	1
Totaal		134	135

De bepalingen van de EBNA IgM gebeurden met EUROLINE: EBV-Profil 2 van Euroimmun en recomLine EBV IgM van Mikrogen.

De bepalingen van de EA IgM gebeurden met de Anti-EBV recombinant EA IgM Elisa van Biotest en de EBV-EA IgM Elisa en EUROLINE: EBV-Profil 2 (beiden van Euroimmun). De bepalingen van de totale IgM gebeurden met de Enzygnost anti-EBV IgM II kit van Dade Behring.

6.2.3. Resultaten

6.2.3.1. Heterofiele antistoffen

Voor staal S/7800 gaven 99 laboratoria het antwoord «negatief» voor de heterofiele antistoffen, voor S/7801 gaven 100 laboratoria dit antwoord. Voor beide stalen waren er 2 laboratoria die aangaven de test uit te voeren maar het antwoord open lieten.

6.2.3.2. IgG

a. VCA IgG

Voor S/7800 bekwamen 119 laboratoria positieve resultaten en 1 een borderline resultaat. Voor S/7801 bekwamen 118 laboratoria positieve resultaten, 1 een borderline en 1 een negatief resultaat. Het laboratorium dat twee methoden gebruikte, bekwam met beide methoden een positief resultaat voor beide stalen.

Voor de kit Liaison VCA IgG (Diasorin) hebben wij mediaan, minimum en maximum berekend. Deze resultaten worden weergegeven in tabel 6.2.8.

Voor de andere kits met meer dan 10 gebruikers was een kwantitatieve evaluatie van de resultaten onmogelijk: voor EBV-CA IgG Elisa (Euroimmun) kits werden de kwantitatieve resultaten in verschillende eenheden geantwoord en voor Merifluor EBV IgG (Meridian) werden voornamelijk resultaten « > » of « ≥ » geantwoord, doch met verschillende «grenzen».

Tabel 6.2.8. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor Liaison VCA IgG voor stalen S/7800 en S/7801; de resultaten worden uitgedrukt in U/ml.

Staal	Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
S/7800	48	234	155	333
S/7801	48	81,8	65,4	153

b. EBNA IgG

Voor S/7800 bekwamen 72 laboratoria een positief resultaat, 2 een borderline resultaat en lieten 2 laboratoria het antwoord open. Voor S/7801 bekwamen 71 laboratoria een positief resultaat, 6 een borderline en 3 een negatief resultaat.

Voor de kit Liaison VCA IgG (Diasorin) rapporteert voor staal S/7800 1 laboratorium het kwantitatieve resultaat 595 U/ml, 2 rapporteerden 599 U/ml, 1 >599 U/ml, 1 rapporteerde 600 U/ml en 23 > 600 U/ml; 3 laboratoria hebben het kwantitatieve resultaat niet geantwoord.

Voor staal S/7801 hebben wij voor deze kit mediaan, minimum en maximum berekend. Deze resultaten worden weergegeven in tabel 6.2.9.

Voor de andere kit met meer dan 10 gebruikers (EBV-CA IgG Elisa (Euroimmun)) was een kwantitatieve evaluatie van de resultaten onmogelijk gezien de kwantitatieve resultaten in verschillende eenheden geantwoord werden.

Tabel 6.2.9. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor Liaison EBNA IgG voor staal S/7801; de resultaten worden uitgedrukt in U/ml.

Kit	aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
Liaison EBNA IgG (U/ml)	35	52,3	42	66,8

NB 1 laboratorium heeft een kwantitatief resultaat van 52 U/ml als «negatief» geïnterpreteerd.

a. EA IgG

Voor beide stalen bekwamen 11 laboratoria een negatief resultaat en 1 een positief.

b. Totale IgG

Alle laboratoria bekwamen voor beide stalen een positief resultaat.

Een overzicht van de kwantitatieve resultaten vindt u in tabel 6.2.10.

Tabel 6.2.10. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor Enzygnost anti-EBV IgG voor stalen S/7800 en S/7801; de resultaten worden uitgedrukt in U/ml.

Staal	Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
S/7800	22	141	106	284
S/7801	22	100	72	173

6.2.3.3. IgM

a. VCA IgM

Een overzicht van de resultaten per laboratorium worden weergegeven in tabel 6.2.11. De gevallen waarbij 2 resultaten vermeld worden, betreft laboratoria die 2 technieken gebruikt hebben voor staal S/7801 (voor staal S/7800 kwam het laboratorium dat 2 technieken gebruikte met beide technieken een negatief resultaat).

Tabel 6.2.11. Resultaten van de VCA IgM voor staal S/7800 en S/7801.

Resultaat	S/7800	S/7801
Negatief	129	76
Positief	2	38
Borderline	2	14
Geen antwoord	-	2
Positief/negatief	-	2
Borderline/negatief	-	1
Totaal	133	133

a. EBNA IgM

Voor staal S/7800 kwam 1 laboratorium een positief resultaat en 1 een negatief. Voor S/7801 kwamen beide laboratoria een negatief resultaat.

b. EA IgM

Voor staal S/7800 kwamen 2 laboratoria een borderline resultaat en 1 een negatief. Voor S/7801 kwam 1 laboratorium een positief resultaat en 2 een negatief resultaat.

c. Totale IgM

Alle laboratoria kwamen voor beide stalen een negatief resultaat.

6.3. CMV

6.3.1. De deelnemers

179 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 456 testen uit op staal S/7800 en 457 testen op staal S/7801.

Op staal S/7800 voerden 2 laboratoria 1 test uit, 90 laboratoria 2 testen, 76 laboratoria 3 testen, 9 laboratoria 4 testen en 2 laboratoria 5 testen.

Op staal S/7801 voerden 2 laboratoria 1 test uit, 89 laboratoria 2 testen, 77 laboratoria 3 testen, 9 laboratoria 4 testen en 2 laboratoria 5 testen.

Op staal S/7800

- 2 laboratoria bepaalden de totale antistoffen
- alle laboratoria voerden minstens één bepaling van IgG uit; 177 labo's voerden één bepaling uit, 2 laboratoria voerden 2 bepalingen uit; in totaal werden er dus 181 IgG bepalingen uitgevoerd
- 175 laboratoria voerden minstens één bepaling van IgM uit; 162 labo's voerden één bepaling uit, 13 laboratoria voerden 2 bepalingen uit; in totaal werden er dus 188 IgM bepalingen uitgevoerd
- 84 laboratoria bepaalden de aviditeit: 83 met 1 methode en 1 laboratorium met 2 methoden; er werden dus 85 bepalingen van de aviditeit uitgevoerd

Op staal S/7801 :

- 2 laboratoria bepaalden de totale antistoffen
- alle laboratoria voerden minstens één bepaling van IgG uit; 177 labo's voerden één bepaling uit, 2 laboratoria voerden 2 bepalingen uit; in totaal werden er dus 181 IgG bepalingen uitgevoerd
- 175 laboratoria voerden minstens één bepaling van IgM uit; 162 labo's voerden één bepaling uit, 13 laboratoria voerden 2 bepalingen uit; in totaal werden er dus 188 IgM bepalingen uitgevoerd
- 85 laboratoria bepaalden de aviditeit: 84 met 1 methode en 1 laboratorium met 2 methoden; er werden dus 86 bepalingen van de aviditeit uitgevoerd

1 laboratorium bepaalde op staal S/7800 IgG en IgM en op staal S/7801 IgG, IgM en de aviditeit; alle andere laboratoria voerden op beide stalen dezelfde testen uit.

Tabel 6.3.1. Aantal deelnemers verdeeld per parameter

Parameter	Aantal labo's	
	S/7800	S/7801
Alleen IgG	2	2
Totaal + IgG	2	2
IgG + IgM	88	87
IgG + IgM + IgG aviditeit	73	74
IgG + 2 IgM	3	3
IgG + 2 IgM + IgG aviditeit	8	8
IgG + IgM + 2 IgG aviditeit	1	1
2 IgG + 2 IgM + IgG aviditeit	2	2

6.3.2. Gebruikte reagentia

6.3.2.1 Reagentia gebruikt voor de bepaling van totale antistoffen tegen CMV

Tabel 6.3.2.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van totale anti-CMV AS.

Fabrikant	Kit	S/7800	S/7801
Diamed	CMV IgG/IgM	1	1
Diesse	Enzywell CMV screen	1	1
Totaal		2	2

6.3.2.2. Reagentia gebruikt voor de bepaling van CMV IgG

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

Fabrikant	Kit	S/7800	S/7801
Abbott	AxSYM CMV IgG	47	47
	Architect CMV IgG	14	14
bioMérieux	VIDAS CMV IgG	56	56
Dade Behring	Enzygnost anti CMV IgG	8	8
Diamedix	CMV IgG	1	1
Diasorin	Liaison CMV IgG	35	35
	ETI-CYTOK-G Plus	4	4
Euroimmun	CMV IgG	1	1
Mikrogen	recomBlot CMV IgG	1	1
Siemens	Immulite CMV IgG	12	12
Virion	Cytomegalovirus IgG ELISA	1	1
Niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd	1	1
Totaal		181	181

6.3.2.3. Reagentia gebruikt voor de bepaling van CMV IgM.

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

Fabrikant	Kit	S/7800	S/7801
Abbott	AxSYM CMV IgM	33	33
	Architect CMV IgM	12	12
bioMérieux	VIDAS CMV IgM	73	73
Dade Behring	Enzygnost anti CMV IgM	8	8
Diamed	CMV IgM	1	1
Diamedix	CMV IgM	1	1
Diasorin	Liaison CMV IgM	37	37
	ETI-CYTOK-M reverse Plus	6	6
Diesse	Chorus CMV IgM	1	1
Euroimmun	CMV IgM	1	1
Meridian	Merifluor CMV IgM	1	1
Mikrogen	recomBlot CMV IgM	1	1
Siemens	Immulite CMV IgM	11	11
Virion	Cytomegalovirus IgM ELISA	1	1
Niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd	1	1
Totaal		188	188

6.3.2.4. Reagentia gebruikt voor de bepaling van CMV IgG aviditeit.

Tabel 6.3.5.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van CMV IgG aviditeit.

Fabrikant	Kit	S/7800	S/7801
bioMérieux	VIDAS CMV IgG avidity	60	60
Diasorin	Liaison CMV IgG avidity	18	19
Diesse	Chorus CMV IgG avidity	4	4
Euroimmun	CMV avidity determination IgG	1	1
In house	In house	1	1
Mikrogen	recomBlot CMV IgG avidity	1	1
Totaal		85	86

6.3.3. Resultaten

6.3.3.1 Bepaling van de totale anti-CMV antistoffen

De beide laboratoria die de totale antistoffen bepaalden, vonden deze positief voor beide stalen.

6.3.3.2. Bepaling van de IgG

Voor staal S/7800: alle resultaten waren positief. De beide laboratoria die IgG met 2 methoden bepaalden, bekwamen voor beide methoden een positief resultaat.

Voor staal S/7801: alle resultaten waren positief. De beide laboratoria die IgG met 2 methoden bepaalden, bekwamen voor beide methoden een positief resultaat.

Voor de kits met meer dan 10 gebruikers hebben wij mediaan, minimum en maximum berekend, voor zover de laboratoria een kwantitatief resultaat geantwoord hebben. Deze worden weergegeven in tabellen 6.3.6. en 6.3.7.

Tabel 6.3.6. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor CMV IgG voor staal S/7800 voor de meest gebruikte kits; de resultaten worden uitgedrukt in AU/ml («A» staat voor arbitrair), IU/ml of index; elke methode heeft echter zijn eigen «arbitraire» of «internationale» eenheid, welke onderling niet te vergelijken zijn

Kit	Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
Architect CMV IgG (AU/ml)	14	149,6	129,7	240
AxSYM CMV IgG (AU/ml) ¹	35	219,3	114	248
VIDAS CMV IgG (AU/ml) ²	55	29	24	34
Liaison CMV IgG (IU/ml) ³	33	6,8	2,6	12,3
Immulite CMV IgG (index)	12	11	9,64	13,8

¹ Er dient ook vermeld dat 7 laboratoria een antwoord > 250 AU/ml verstrekten; daarnaast waren er ook 5 laboratoria die veel hogere waarden vermeldden, met name: 805 832 887 911,4 en 1050 AU/ml.

² Er dient nog vermeld dat 1 laboratorium een waarde van 221 AU/ml vermeldde.

³ Er dient nog vermeld dat 2 laboratoria veel hogere waarden vermeldden, met name 21 en 80,7 IU/ml.

Tabel 6.3.7. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor CMV IgG voor staal S/7801 voor de meest gebruikte kits; de resultaten worden uitgedrukt in AU/ml («A» staat voor arbitrair), IU/ml of index; elke methode heeft echter zijn eigen «arbitraire» of «internationale» eenheid, welke onderling niet te vergelijken zijn.

Kit	Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
Architect CMV IgG (AU/ml)	14	85,8	38,2	101
AxSYM CMV IgG (AU/ml)	47	43,3	29	54
VIDAS CMV IgG (AU/ml)	56	26	20	44
Liaison CMV IgG (IU/ml)	34	3,75	2,4	1,1
Immulite CMV IgG (index)	12	6,23	5,32	7,86

6.3.3.3 Bepaling van de IgM

Een overzicht van de resultaten wordt gegeven in tabel 6.3.8.

Tabel 6.3.8. Overzicht van de resultaten voor CMV IgM voor stalen S/7800 en S/7801.

	S/7800	S/7801
Positief	144	174
Positief/borderline ¹	2	-
Positief/negatief ¹	1	-
Borderline	26	-
Negatief	2	1
Totaal	175	175

¹ Drie van de laboratoria die 2 verschillende methoden gebruikten voor de bepaling van de CMV IgM bekwamen voor S/7800 met beide technieken een verschillend resultaat. De overige 10 bekwamen eenzelfde resultaat met beide technieken. Voor S/7801 bekwamen alle 13 laboratoria die 2 technieken gebruikten eenzelfde resultaat met deze beide technieken.

Voor de kits met meer dan 10 gebruikers hebben wij mediaan, minimum en maximum berekend, voor zover de laboratoria een kwantitatief resultaat geantwoord hebben. Deze worden weergegeven in tabellen 6.3.9. en 6.3.10.

Tabel 6.3.9. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor CMV IgM voor staal S/7800 voor de meest gebruikte kits.

Kit	Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
Architect CMV IgM (index) ¹	12	1,56	1,31	1,76
AxSYM CMV IgM (index) ²	32	1,608	1,140	2,057
VIDAS CMV IgM (index) ³	71	0,97	0,75	1,58
Liaison CMV IgM (AU/ml) ⁴	36	62,1	35,5	77
Immulate CMV IgM (index) ⁵	11	1,13	0,86	1,30

¹ Het laboratorium dat de index 1,31 bekwam, beschouwde de IgM als borderline. Alle andere gebruikers van deze kit vonden de IgM positief.

² Tevens antwoordde één laboratorium een OD/CO van 2,5. Opvallend is dat één laboratorium een index van 1,6 als negatief beoordeelde. Alle andere gebruikers van deze kit vonden de IgM positief.

³ Tevens gaven 2 laboratoria geen kwantitatief resultaat door. 54 gebruikers van deze kit vonden de IgM positief en 19 vonden ze borderline.

⁴ Tevens gaf 1 laboratorium geen kwantitatief resultaat door. Opvallend is dat één laboratorium een resultaat van 61,4 AU/ml als borderline beoordeelde. Alle andere gebruikers van deze kit vonden de IgM positief.

⁵ 5 gebruikers van deze kit vonden de IgM positief, 5 vonden ze borderline en 1 vond ze negatief.

Tabel 6.3.10. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor CMV IgM voor staal S/7801 voor de meest gebruikte kits.

Kit	Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
Architect CMV IgM (index)	12	9,42	8,09	10,62
AxSYM CMV IgM (index) ¹	32	1,208	0,900	1,689
VIDAS CMV IgM (index)	71	2,39	1,11	2,81
Liaison CMV IgM (AU/ml)	35	99	68,5	156
Immulite CMV IgM (index)	11	8	6,19	8,62

¹ Tevens antwoordde één laboratorium een OD/CO van 6,7. Opvallend is dat één laboratorium een index van 1,4 als negatief beoordeelde.

6.3.3.4 Aviditeit

Een overzicht van de resultaten wordt gegeven in tabel 6.3.11.

Tabel 6.3.11. Overzicht van de resultaten voor CMV IgG aviditeit voor stalen S/7800 en S/7801.

	S/7800	S/7801
Laag	46	81
Laag/intermediair ¹	1	-
Intermediair	33	2
Hoog	3	2
Geen antwoord ²	1	-
Totaal	84	85

¹ Het laboratorium dat 2 verschillende methoden gebruikte voor de bepaling van de CMV aviditeit bekwam voor S/7800 met beide technieken een verschillend resultaat. Voor S/7801 bekwam het met beide technieken eenzelfde resultaat («hoog»).

² Eén laboratorium gaf voor staal S/7800 wel het kwantitatief resultaat (index 0,40) weer, maar niet de kwalitatieve interpretatie.

Voor de kits met meer dan 10 gebruikers hebben wij mediaan, minimum en maximum berekend, voor zover de laboratoria een kwantitatief resultaat geantwoord hebben. Deze worden weergegeven in tabellen 6.3.12. en 6.3.13. Voor vereenvoudiging van de berekening werden de resultaten (voor zover dit mogelijk was) naar % omgerekend

Tabel 6.3.12. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor CMV IgG aviditeit voor staal S/7800 voor de meest gebruikte kits.

Kit	Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
VIDAS CMV IgG avidity (%) ¹	56	37	13	46
Liaison CMV IgG avidity (%) ²	17	16,2	5	33

¹ Tevens gaven enkele laboratoria resultaten door in eenheden die niet konden omgerekend worden naar %, met name: 0,267 ua/ml, 0,307 verhouding, 0,97 (eenheid niet gepreciseerd). 1 laboratorium gaf geen kwantitatief resultaat door. 33 gebruikers van deze kit vonden de aviditeit laag, 26 vonden ze intermediair en 1 gaf geen kwalitatieve interpretatie van zijn kwantitatief resultaat.

² Tevens gaf 1 laboratorium een resultaat door in een eenheid die niet kon omgerekend worden naar %, met name: 0,107 av. 11 gebruikers van deze kit vonden de aviditeit laag, 6 vonden ze intermediair en 1 vond ze hoog (voor een index 0,33).

Tabel 6.3.13. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor CMV IgG aviditeit voor staal S/7801 voor de meest gebruikte kits.

Kit	Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
VIDAS CMV IgG avidity (%) ¹	55	17,6	5	30
Liaison CMV IgG avidity (%) ²	18	8,4	2,5	15,2

¹ Tevens gaven enkele laboratoria resultaten door in eenheden die niet konden omgerekend worden naar %, met name: $\leq 0,20$ ua/ml, 0,508 verhouding, 2,5 (eenheid niet gepreciseerd). 1 laboratorium antwoordde: «niet-interpreteerbare IgG aviditeit: te laag». 56 gebruikers van deze kit vonden de aviditeit laag, 2 vonden ze intermediair en 2 vonden ze hoog (het laboratorium met het antwoord 2,5 en een laboratorium met een index van 0,156).

² Tevens gaf 1 laboratorium een resultaat door in een eenheid die niet kon omgerekend worden naar %, met name: 0,48 av; dit laboratorium gaf de interpretatie «hoog». Alle andere gebruikers van deze kit vonden de aviditeit laag.

6.4. Interpretaties voor stalen S/7800 en S/7801

Ter gelegenheid van deze enquête werd u gevraagd om voor elk van beide stalen CMV en EBV samen te interpreteren. Dit stelde een probleem voor de laboratoria die slechts 1 van deze parameters bepalen. Een aantal van deze laboratoria heeft dit (perfect) opgelost door onder de rubriek «andere» de interpretatie te verstrekken van de door hen uitgevoerde parameter, vergezeld van de opmerking dat de andere parameter niet uitgevoerd wordt in hun laboratorium. Een aantal andere laboratoria verklaarden dat het hun onmogelijk was de interpretatie zoals voorgesteld door ons, uit te voeren; gezien de wijze waarop de mogelijke interpretaties voorgesteld waren, kunnen we dit aanvaarden.

Indien we in de toekomst nog dergelijke stalen met gecombineerde interpretaties versturen, zullen we ervoor waken ook mogelijkheden te voorzien voor laboratoria die slechts 1 parameter uitvoeren.

176 laboratoria zonden het antwoordformulier van de interpretaties terug.

6.4.1. Staal S/7800

Voor staal S/7800 opteerde de meerderheid van de laboratoria voor de interpretatie «Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie en voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie». Een aantal laboratoria verkoos een variante hierop. Enkele laboratoria verkozen andere interpretaties.

Een overzicht van de interpretaties wordt in onderstaande tabel 6.4.1. weergegeven:

Tabel 6.4.1. Interpretatie voor staal S/7800

Interpretatie	S/7800
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie en voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie. ¹	136
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie en/of een EBV primoinfectie; verder onderzoek is noodzakelijk om het onderscheid te maken. ²	9
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie; geen elementen voor een EBV infectie.	4
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie; geen elementen voor een recente EBV infectie.	1
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie; de testen voor EBV vertonen kruisreacties.	1
Serologie suggestief voor een net doorgemaakte CMV infectie en voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie.	1
CMV infectie: aviditeit bepaling noodzakelijk om tijdstip infectie te bepalen; doorgemaakte EBV infectie.	1
Mogelijke CMV primoinfectie; uit te sluiten via IgG aviditeit en 2e staalname na 3 weken. EBV negatief.	1
Serologie suggestief voor CMV primoinfectie en een vroeger doorgemaakte EBV infectie. Bijkomende testen enkel CMV IgG aviditeit. 2e staalname na enkele weken.	1
Serologie suggestief voor CMV primoinfectie; geen elementen voor EBV primoinfectie. Verder onderzoek is noodzakelijk: - viruskweek op urine - andere serologie (hepatitistesten) - CMV aviditeit - titerstijging CMV IgG op 2e staal.	1
Serologisch profiel compatibel met een primoinfectie in de voorgaande weken of (met) aanwezigheid van residuele IgM. Een eventuele reïnfectie of reactivatie moet uitgesloten worden. Op basis van de klinische gegevens, een reïnfectie door de echtgenoot die er één doormaakt.	1
Te controleren binnen 1-2 weken indien vermoeden van recente infectie of reactivatie.	1
Oude EBV; relatief oude CMV (> 3 maanden).	1
Oude EBV-infectie; CMV-infectie > 3 maanden (hoge aviditeit).	1
Vroeger doorgemaakte EBV. Strikt genomen kunnen we niet zeggen of het hier over CMV primoinfectie, CMV-reactivatie of zelfs vals positieve IgM gaat. Kliniek van de patiënt kan ook andere, CMV-niet gerelateerde oorzaken hebben.	1
Vroeger doorgemaakte CMV + reactivatie EBV.	1
Serologie suggestief voor een primoinfectie van CMV. Wij voeren zelf geen EBV-testen (enkel monospot) uit. Maar aangezien de CMV testen voor IgG en IgM op VIDAS zeer specifieke testen zijn, dient de vraag naar EBV mijn inziens niet gesteld te worden. ³	1
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie. Bijkomende test IgG aviditeit of controle CMV IgG na 3-tal weken (geen EBV serologie gedaan). ³	1
Serologie suggestief voor CMV primoinfectie. Geen interpretatie mogelijk voor EBV. ³	1
Gezien in het labo enkel CMV infectie serologie uitgevoerd wordt, is het onmogelijk om bovenstaande interpretaties te gebruiken. Indien geen rekening wordt gehouden met EBV, vinden we de beide patiënten serologisch suggestief voor een CMV primoinfectie. ³	1
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie. ³	2
EBV serologie indicatief voor een vroeger doorgemaakte infectie (CMV-serologie wordt niet uitgevoerd in ons laboratorium). ⁴	1
Geen interpretatie mogelijk zonder EBV serologie. ³	4
Geen interpretatie op basis van de in het laboratorium uitgevoerde testen. ⁵	3
Totaal	176

- ¹ Enkele laboratoria voorzagen dit antwoord van een opmerking:
- 2 laboratoria raadden aan een controlestaal af te nemen
 - 1 laboratorium raadde eveneens de afname van een controlestaal aan en vermeldde tevens dat het huidige staal zou doorgestuurd worden voor bevestiging van de CMV IgM
 - 1 laboratorium raadt aan om VCA IgG te laten uitvoeren voor bevestiging van voorbijge EBV-infectie en om kruisreactie uit te sluiten (dit labo voerde VCA IgM (negatief) en EBNA IgG (positief) uit)
 - «CMV in genezingsfase en oude EBV infectie»
 - «Gezien intermediaire aviditeit is deze interpretatie niet absoluut met zekerheid te bevestigen. Een reactivatie van een eerder doorgemaakte infectie is niet uit te sluiten (IgM meestal negatief). Een controlestaal na 3 weken kan overwogen worden. Gezien klinische informatie gaat het vermoedelijk over een «recente» infectie (+/- 3 mnd. of ouder)»
 - «In geval van zwangerschap wordt het staal verstuurd voor bepaling van de CMV IgG aviditeit»
 - «Vroegere EBV infectie (immuniteit); CMV resultaten extern labo»
 - «De interpretaties werden genomen op basis van: de bekomen resultaten voor CMV; aanvullende testen (EBV IgM, EBV VCA IgG en EBV EBNA IgG en CMV aviditeit) die uitgevoerd werden in extern labo»
- ² Twee laboratoria raadden bijkomende testen aan, drie laboratoria een nieuwe staalafname en 4 laboratoria bijkomende testen en een nieuwe staalafname.
Eén van deze laboratoria verklaarde geen EBV serologie uit te voeren en raadde een PCR aan om de CMV-infectie te bevestigen.
- ³ Antwoorden gegeven door laboratoria die enkel CMV bepaald hebben.
- ⁴ Antwoord gegeven door een laboratorium dat enkel EBV bepaald heeft.
- ⁵ Twee van deze laboratoria bepaalden voor EBV enkel de heterofiele antistoffen en voerden geen testen voor CMV uit. Het derde laboratorium bepaalde enkel de totale en IgG antistoffen voor CMV en geen testen voor EBV

6.4.2. Staal S/7801

Ook voor staal S/7801 koos een meerderheid van de laboratoria voor de interpretatie «Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie en voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie». Een niet onaanzienlijk aantal laboratoria verkoos «Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie; de testen voor EBV vertonen kruisreacties». De voorkeur van een aantal andere ging uit naar «Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie en/of een EBV primoinfectie; verder onderzoek is noodzakelijk om het onderscheid te maken.» Enkele laboratoria verkozen combinaties van voorgaande of andere interpretaties.

Een overzicht van de interpretaties wordt in onderstaande tabel 6.4.2. weergegeven:

Tabel 6.4.2. Interpretatie voor staal S/7801

Interprétation	S/7801
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie en voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie. ¹	100
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie; de testen voor EBV vertonen kruisreacties. ²	33
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie en/of een EBV primoinfectie; verder onderzoek is noodzakelijk om het onderscheid te maken. ³	15
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie; geen elementen voor een EBV infectie. ⁴	5
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie; geen elementen voor een recente EBV infectie.	1
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie en voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie. Of	4
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie; de testen voor EBV vertonen kruisreacties. ⁵	
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie en/of een EBV primoinfectie; verder onderzoek is noodzakelijk om het onderscheid te maken En	1
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie; de testen voor EBV vertonen kruisreacties. ⁶	
CMV infectie: aviditeit bepaling noodzakelijk om tijdstip infectie te bepalen; doorgemaakte EBV infectie.	1
Serologie suggestief voor CMV primoinfectie geen elementen voor EBV primoinfectie. Verder onderzoek is noodzakelijk: - viruskweek op urine - andere serologie (hepatitistesten) - CMV aviditeit - titerstijging CMV IgG op 2e staal.	1
Vroeger doorgemaakte EBV. Strikt genomen kunnen we niet zeggen of het hier over CMV primo-infectie, CMV-reactivatie of zelfs vals positieve IgM gaat. Kliniek van de patiënt kan ook andere, CMV-niet gerelateerde oorzaken hebben.	1
Serologie suggestief voor een primo-infectie van CMV. Wij voeren zelf geen EBV-testen (enkel monospot) uit. Maar aangezien de CMV testen voor IgG en IgM op VIDAS zeer specifieke testen zijn, dient de vraag naar EBV mijn inziens niet gesteld te worden. ⁷	1
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie. Bijkomende test IgG aviditeit of controle CMV IgG na 3-tal weken (geen EBV serologie gedaan). ⁷	1
Serologie suggestief voor vroeger doorgemaakte CMV primoinfectie. EBV serologie uitvoeren om primo-infectie met EBV uit te sluiten. ⁷	1
Gezien in het labo enkel CMV infectie serologie uitgevoerd wordt, is het onmogelijk om bovenstaande interpretaties te gebruiken. Indien geen rekening wordt gehouden met EBV, vinden we de beide patiënten serologisch suggestief voor een CMV primo-infectie. ⁷	1
Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie. ⁷	2
EBV serologie indicatief voor een vroeger doorgemaakte infectie (CMV-serologie wordt niet uitgevoerd in ons laboratorium). ⁸	1
Geen interpretatie mogelijk zonder EBV serologie. ⁷	4
Geen interpretatie op basis van de in het laboratorium uitgevoerde testen. ⁹	3
Totaal	176

- ¹ Enkele laboratoria voorzagen dit antwoord van een opmerking:
- 2 laboratoria raadden aan een controlestaal af te nemen
 - 1 laboratorium raadde eveneens de afname van een controlestaal aan en vermeldde tevens dat het huidige staal zou doorgestuurd worden voor bevestiging van de CMV IgM
 - 1 laboratorium raadt aan om VCA IgG te laten uitvoeren voor bevestiging van voorbijge EBV-infectie en om kruisreactie uit te sluiten (dit labo voerde VCA IgM (negatief) en EBNA IgG (positief) uit)
 - «Met persisterende IgM»
 - «Acute CMV-infectie. Patiënt S/7801 werd vermoedelijk besmet met de CMV van patiënte S/7800»
 - «Vroegere EBV infectie (immunitet); CMV resultaten extern labo»
 - «De interpretaties werden genomen op basis van: de bekomen resultaten voor CMV; aanvullende testen (EBV IgM, EBV VCA IgG en EBV EBNA IgG en CMV aviditeit) die uitgevoerd werden in extern labo»
- ² Eén laboratorium raadde aan om na 2-3 weken een controlestaal af te nemen.
- ³ Vier laboratoria raadden bijkomende testen aan, vier laboratoria een nieuwe staalafname en 7 laboratoria bijkomende testen en een nieuwe staalafname.
Eén van deze laboratoria vermoedde dat het om een CMV primo-infectie en een kruisreactie voor EBV gaat (raadde aan om EBNA IgG te bepalen en een tweede staal af te nemen na 2-3 weken).
Eén van deze laboratoria verklaarde geen EBV serologie uit te voeren en raadde een PCR aan om de CMV-infectie te bevestigen.
- ⁴ Eén laboratorium raadde aan om na +/- 3 weken een controlestaal af te nemen voor opvolging van de titer.
- ⁵ Twee laboratoria vermeldden dat de interpretatie «Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie; de testen voor EBV vertonen kruisreacties.» slechts geldig is voor 1 van de EBV testen.
- ⁶ Dit laboratorium raadde aan om de formule van de witte bloedcellen te bepalen.
- ⁷ Antwoorden gegeven door laboratoria die enkel CMV bepaald hebben.
- ⁸ Antwoorden gegeven door een laboratorium dat enkel EBV bepaald heeft.
- ⁹ Twee van deze laboratoria bepaalden voor EBV enkel de heterofiele antistoffen en voerden geen testen voor CMV uit. Het derde laboratorium bepaalde enkel de totale en IgG antistoffen voor CMV en geen testen voor EBV.

6.5 Bespreking kwaliteitscontrole serologie: CMV en EBV antistoffen

Zie ook commentaar van de kwaliteitscontrole 2005/3.

Inleiding

Cytomegalovirus en Epstein Barr virus zijn herpesvirussen. De serologische diagnose van infecties veroorzaakt door herpesvirussen wordt bemoeilijkt door hun onderlinge kruisreacties. Een infectie met een bepaald type herpesvirus kan een stimulatie van de immunologische respons met zich meebrengen en de antilichamen t.o.v. andere herpesvirussen doen stijgen. Vooral IgM bepalingen zijn onderhevig aan dergelijke kruisreacties.

De aanwezigheid van IgM antistoffen tegen herpesvirussen wijst dus niet noodzakelijk op een primaire infectie. Daarom werd in de keuzemogelijkheden voor de antwoorden geopteerd voor de antwoorden «serologie suggestief voor.....» De serologie suggereert dat het kan gaan om een recente infectie, maar er zijn te weinig elementen om het echte bewijs ervan te leveren. De interpretatie zal dan gebeuren in functie van de klinische symptomatologie en de resultaten van eventueel andere testen.

Onderzochte stalen

Er werden twee stalen opgestuurd van een echtpaar die beiden een primaire CMV infectie doormaakten. De diagnose van CMV infectie werd eerst bij de man gesteld. Die vertoonde koorts en gestoorde levertesten. Enkele weken nadien werden eveneens leverstoornissen gevonden bij zijn echtgenote. De stalen werden afgenomen resp. 2 en 4 weken na de diagnosestelling.

Bespreking CMV serologie

IgG

Alle laboratoria vonden positieve IgG waarden in beide stalen. Merk op dat er tussen de verschillende kits totaal geen overeenkomst is wat betreft de arbitraire eenheden die gevonden worden. Zo is de mediaan voor het staal S/7800 bij de AxSYM CMV IgG 219 en 29 bij de VIDAS CMV IgG. De mediaan bij Liaison CMV IgG was 6.8 IU. Dit herinnert er ons nogmaals aan dat titerverschillen in opeenvolgende stalen enkel mogen geïnterpreteerd worden indien deze in hetzelfde labo met dezelfde techniek (bij voorkeur ook in dezelfde run) werden uitgevoerd

IgM

Voor wat betreft de IgM bepaling werden wel enkele problemen genoteerd:

Beide stalen waren afkomstig van patiënten met een primaire CMV infectie en werden afgenomen relatief kort na de diagnose. We verwachten dus bij beide stalen een positieve IgM.

Bij S/7800 waren er 3 labo's die een negatief resultaat doorgaven.

Opmerkelijk is dat één labo een waarde als negatief beschouwde, die door andere gebruikers van dezelfde kit als positief werd geïnterpreteerd. Dit labo gaf toch een juiste interpretatie van het serologisch patroon nl «suggestief voor een primaire CMV infectie». Mogelijk gaat het hier om een onoplettendheid van het uitvoerend labo in het overschrijven op het formulier, en mogen we dit resultaat niet als een falen van de kit beschouwen.

Bij S/7801 werd er eveneens een gelijkaardige fout waargenomen bij hetzelfde labo. Indien we de foute interpretaties van de IgM elimineren kunnen we stellen dat er slechts twee gebruikers waren die geen IgM detecteerden in staal S/7800: de CMV

IgM (Diamedix) (slechts een gebruiker) en Immulite CMV IgM (1 negatief resultaat op 11 gebruikers)

IgG aviditeit

We verwachten hier een lage aviditeit voor beide stalen gezien het hier gaat om een recente primaire infectie.

S/7800

Van de 84 labo's die aviditeit hebben uitgevoerd op dit staal, waren er 3 die een hoge aviditeit terugvonden.

Bij analyse van deze foute resultaten blijkt dat deze hoge aviditeit werd gevonden door

Chorus CMV IgG avidity (Diesse) (1 van de 4 gebruikers)

Liaison CMV IgG avidity (Diasorin) (1 van de 18 gebruikers)

CMV avidity determination IgG (Euroimmun) slechts 1 gebruiker

De gebruikers van deze kits gaven bijgevolg een verkeerde interpretatie wat betreft de CMV serologie nl infectie > 3 maand.

De reden van de foute interpretaties is niet duidelijk, mogelijk zou de lage IgG titer hier een rol kunnen in spelen.

S/7801

Van de 85 labo's die aviditeit hebben uitgevoerd op dit staal waren er 2 die een hoge aviditeit terugvonden.

Bij analyse van deze foute resultaten blijkt dat deze hoge aviditeit waarschijnlijk verkeerd werd geïnterpreteerd want de waarden die werden gerapporteerd correleren met een lage aviditeit.

Foute antwoorden voor CMV serologie

3 foute antwoorden werden gegeven

Relatief oude CMV (> 3 maanden)

CMV-infectie > 3 maanden (hoge aviditeit)

Vroeger doorgemaakte CMV + reactivatie EBV

Juiste antwoorden voor CMV serologie

Juiste antwoorden voor beide stalen zijn: Serologie suggestief voor een primaire infectie met CMV en variaties hierop. (Zie opmerkingen in 6.4)

Opmerkingen

Eén labo heeft een CMV PCR aangeraden ter bevestiging van een primaire CMV infectie. PCR testen zijn echter niet aangewezen bij immunocompetente personen ter bevestiging van een positieve IgM serologie; bovendien kan men door middel van een PCR het onderscheid tussen een primaire infectie en een reactivatie niet maken.

Bespreking EBV serologie

Het tweede objectief van deze kwaliteitscontrole was nagaan of de primaire CMV infectie een invloed had op de resultaten van de EBV IgM.

Heterofiele antilichamen

Geen enkel van de laboratoria die deze test uitvoerden vond een positief resultaat. Gezien het hier niet ging om een acute EBV infectie was dit resultaat te verwachten.

IgG antistoffen tegen EBV

De beide patiënten hadden reeds IgG antilichamen tegen EBV van een vroeger doorgemaakte EBV infectie.

VCA IgG

Slechts 1 labo vond een negatief resultaat met het serumstaal S/7801. De kit die hiervoor werd gebruikt is EBV IgG Elisa van Alphasia (slechts een gebruiker).

EBNA IgG

Hier ook antwoordden de meeste labo's correct EBNA IgG positief.

Foutte antwoorden werden gegeven bij S/7801: Drie labo's rapporteerden een negatieve EBNA IgG.

Eén labo beschouwde een waarde als negatief, die door andere gebruikers van dezelfde kit als positief werd geïnterpreteerd.

Andere (reële) foutieve resultaten werden gegeven door de kits van
(EBNA-1) IgG Elisa (Euroimmun) (1 van de 13 gebruikers)
EUROLINE: EBV-Profil 2 (Euroimmun) (slechts een gebruiker)

EA IgG

8 labo's bepaalden EA IgG. Het opsporen van IgG antistoffen tegen het EA is geen goede techniek om na te gaan of de patiënt reeds een infectie met het EBV virus heeft doorgemaakt. Immers de EA antilichamen stijgen kort na de infectie maar worden negatief enkele maanden na de acute infectie. Bij reactivaties, en bij EBV geassocieerde neoplasieën (Burkitt lymfoom, nasofaryngeaal carcinoom) kunnen ze opnieuw gedetecteerd worden.

IgM antistoffen tegen EBV

De meeste laboratoria vonden geen EBV IgM antistoffen in beide serumstalen.

De gebruikers van de Liaison rapporteerden echter heel vaak positieve IgM in het staal S/7801. Van de 46 resultaten gerapporteerd met deze techniek vonden er 34 het staal positief, en 11 vonden een borderline resultaat.

Een kruisreactie is geen onoverkomelijk probleem in zoverre men een positieve test steeds confirmeert. Gebruikers van de Liaison moeten zich van deze mogelijke kruisreactie bewust zijn en zorgen voor een confirmatietechniek. 27 van de 34 labo's hebben dan ook de EBNA IgG uitgevoerd. 7 hebben geen EBNA IgG uitgevoerd, maar 1 labo heeft een andere IgM techniek uitgevoerd die negatief werd bevonden.

Het bepalen van de EBNA IgG antistoffen kan gebruikt worden om de diagnose van primaire EBV infectie te bevestigen in geval van een positief EBV VCA IgM resultaat. EBNA antistoffen beginnen te stijgen 2 à 3 maand na een primaire EBV infectie en bereiken een piek na 7 à 8 maand. Ze blijven levenslang positief. Een positieve EBNA

IgG serologie sluit een primaire EBV infectie dus uit. Een negatieve EBNA IgG met een positieve VCA IgG en IgM pleit voor een primaire EBV infectie.

Juiste antwoorden voor EBV serologie

Voor EBV waren er geen echt foute resultaten.

Wel werd de volgende niet terechte opmerking genoteerd:

1 laboratorium raadt aan om VCA IgG laten uitvoeren voor bevestiging van voorbijge EBV-infectie en om kruisreactie uit te sluiten.

Gezien dit labo een negatieve VCA IgM en een positieve EBNA IgG had uitgevoerd was de VCA IgG helemaal niet nuttig voor het bevestigen van een vroeger doorgemaakte EBV infectie.

Gebruik van de testen bij EBV

Bij nazicht van combinaties van de testen voor EBV vallen de volgende zaken op:

- 1) Veel labo's gebruiken een groot aantal testen die niet echt noodzakelijk zijn voor de diagnostiek. Waarschijnlijk willen de deelnemende laboratoria alle technieken beschikbaar in het labo uitvoeren op een kwaliteitscontrole.
- 2) Een ideale combinatie van serologische testen (voor de Belgische situatie en buiten de context van EBV geassocieerde tumoren), is VCA IgG en IgM. Het gebruik van deze combinatie impliceert echter het uitvoeren van een confirmatie in geval van positieve IgM resultaten. Voor de confirmatie van een mogelijke primaire EBV infectie kunnen we dan beroep doen op de EBNA IgG:
 - i. een negatieve EBNA IgG in combinatie met een positieve VCA IgG en IgM wijst op een primaire EBV infectie.
 - ii. Opgepast: indien enkel de VCA IgM positief is en de VCA IgG nog negatief is, is een EBNA IgG NIET nuttig. De EBNA IgG kan nooit positief zijn indien de VCA IgG negatief is vermits deze pas later positief wordt. In deze omstandigheid kan het opsporen van heterofiele antistoffen of een follow up staal uitsluitend geven over het al of niet acute karakter van de infectie
- 3) De combinatie van EBNA IgG met een IgM assay kan ook gebruikt worden mits aandacht te schenken aan de volgende elementen:
 - i. Positieve EBNA IgG wijst steeds op een oude infectie ongeacht de aan-of afwezigheid van VCA IgM.
 - ii. Een negatieve EBNA IgG met een positieve VCA IgM echter wijst niet noodzakelijk op een acute EBV infectie. Immers we kunnen hier te maken hebben met een niet «geïmmuniseerde» persoon (geen IgG) die een infectie met een ander herpesvirus doormaakt wat in de IgM aanleiding kan geven tot kruisreacties. Bijgevolg moet dit profiel eveneens gecontroleerd worden. Hier is een EBV VCA IgG een mogelijke bijkomende test. Bij een positieve VCA IgG test hebben we te maken met een primaire infectie (zie 2i.) Bij een negatieve VCA IgG zie opmerking 2ii.

Besluit van de evaluatie van de serologie voor CMV en EBV

1. Er werden geen fundamentele problemen qua reactiviteit van de gebruikte kits teruggevonden.
2. Belangrijk is dat bij de interpretatie van de serologie het volledig serologisch patroon geëvalueerd wordt, en dat we ons niet op één enkele parameter (bv IgG aviditeit, positieve IgM,) baseren om te besluiten tot recente of oude infectie. De meeste laboratoria voldoen aan deze regel.
3. Sommige EBV IgM kits vertonen een hogere mate van kruisreactiviteit met stalen van patiënten met een primaire CMV infectie dan andere, maar bij correct gebruik van confirmatietesten stelde dit geen diagnostische problemen.
4. De meeste, maar niet alle, laboratoria gebruiken een panel van testen die op adequate manier de acute EBV infecties kan diagnosticeren. Het is aan te bevelen dat de andere laboratoria hun panel ook zouden aanpassen en dit in hun SOP opnemen.
5. Er zijn nog steeds onzorgvuldigheden wat het rapporteren van de resultaten betreft. Waarschijnlijk is dit het gevolg van de specifieke aard van de kwaliteitscontroles die voor elk staal een aantal niet routine administratieve handelingen met zich mee brengt. Bij routine stalen zullen er waarschijnlijk minder dergelijke administratieve fouten gebeuren. Toch wijst het op een zekere slordigheid die moet vermeden worden.

Anne Naessens, UZ VUB, Brussel

VII. THEORETISCHE CASUS

Ter gelegenheid van deze enquête vroegen wij u eveneens volgende theoretische casus (met betrekking tot de pre-analytische fase) te beantwoorden. In de toekomst zullen wij stalen versturen gewijd aan de pre-analytische fase.

U ontving volgende klinische informatie:

«U ontvangt woensdag om 8 uur s morgens een midstream urine staal voor microscopisch urine onderzoek, cultuur en antibiogram. Op het aanvraagformulier staat duidelijk vermeld dat het staal dinsdag namiddag afgenomen werd. Dit staal werd zonder afkoeling op het labo bezorgd.»

7.1. Resultaten

Wij ontvingen antwoorden van 175 laboratoria.

In onderstaande tabel 7.1. vindt u een overzicht van de wijze waarop de laboratoria in routine omgaan met dergelijke stalen. Sommige laboratoria maken een onderscheid tussen gehospitaliseerde en niet-gehospitaliseerde patiënten.

Enkele laboratoria hebben een eigen voorstel vermeld (verschillend van de opties die wij aangeboden hadden).

Tabel 7.1. Handelwijze in routine bij confrontatie met een ongeschikt urinestaal (te langdurig transport, geen afkoeling).

Handelwijze in routine	Aantal labo's
U onderzoekt het staal zonder meer ¹	10
U onderzoekt het staal zonder meer Of U onderzoekt het staal en rapporteert i.f.v. het resultaat van het MUO	1
U onderzoekt het staal doch verstrekt een commentaar dat het resultaat met de nodige voorzichtigheid geïnterpreteerd moet worden ²	61
U onderzoekt het staal doch verstrekt een commentaar dat het resultaat met de nodige voorzichtigheid geïnterpreteerd moet worden Of U onderzoekt het staal en ter controle vraagt U de aanvragende geneesheer een nieuw staal te bezorgen ³	4
U onderzoekt het staal doch verstrekt een commentaar dat het resultaat met de nodige voorzichtigheid geïnterpreteerd moet worden Of U verwerpt het staal ⁴	1
U onderzoekt het staal doch verstrekt een commentaar dat het resultaat met de nodige voorzichtigheid geïnterpreteerd moet worden Of U verwerpt het staal en U belt de aanvragende geneesheer op om een nieuw staal te vragen ⁵	2
U onderzoekt het staal doch verstrekt een commentaar dat het resultaat met de nodige voorzichtigheid geïnterpreteerd moet worden Of U verwerpt het staal, U belt de aanvragende geneesheer op om een nieuw staal te bezorgen en herhaalt nog dit verzoek op het rapport ⁶	1
U onderzoekt het staal en rapporteert i.f.v. het resultaat van het MUO ⁷	28

U onderzoekt het staal en ter controle vraagt U de aanvragende geneesheer een nieuw staal te bezorgen ⁸	20
U verwerpt het staal ⁹	1
U verwerpt het staal en U belt de aanvragende geneesheer op om een nieuw staal te vragen	7
U verwerpt het staal en vraagt op het rapport een nieuw staal te bezorgen	5
U verwerpt het staal, U belt de aanvragende geneesheer op om een nieuw staal te bezorgen en herhaalt nog dit verzoek op het rapport. ¹⁰	26
U onderzoekt het staal en rapporteert i.f.v. het resultaat van een expertsysteem dat stripaflezing, resultaat flowcytometer en eventueel MUO aangeeft. Klinisch bioloog valideert en rapporteert op basis van klinische info indien beschikbaar. ¹¹	1
Ik analyseer het staal en in functie van het resultaat voeg ik een commentaar toe.	1
U onderzoekt het microscopisch onderzoek en u verwerpt de cultuur en antibiogram onderzoek	1
1. Wij worden niet geconfronteerd met dit probleem in het ziekenhuis (we werken alleen voor de intra-muros, niet extra-muros).	1
2. Mochten wij zo'n aanvraag hebben zouden we telefoneren of de urine kostbaar staal is én in de koelkast bewaard werd.	
1. Externe patiënt: we analyseren het staal en vermelden een commentaar waarin we aanraden het resultaat met voorzichtigheid te interpreteren gezien de slechte bewaring van het staal en we indien mogelijk een controlestaal vragen.	1
2. Interne patiënt: we verwerpen het staal en vragen via de telefoon een nieuw staal en we herhalen deze vraag op het rapport waarbij we de niet-conformiteit aangeven.	
Het microscopisch onderzoek wordt uitgevoerd (om witte bloedcellen op te sporen); de cultuur wordt niet uitgevoerd. In het rapport wordt een nieuw staal gevraagd.	1
1. Gehospitaliseerde patiënt: in principe wordt het staal verworpen. Er wordt gebeld met de afdeling: als de patiënt reeds onder AB staat, wordt het staal onderzocht en het rapport aangepast in functie van het sediment; als de patiënt niet onder AB staat, wordt een nieuw staal gevraagd.	1
2. Ambulante patiënt (staal ontvangen via pendeldienst): analyse van het staal met aangepast rapport. Indien relevante kliniek wordt een controlestaal gevraagd.	
Geen enkele van de voorgestelde procedures is volledig toepasbaar in ons labo. Gevolgde procedure :	1
1. Privé labo. 10-15 urines per dag. Het protocol met de resultaten vermeldt de datum van afname, van receptionering en van protocolering. Het staal wordt geënt binnen de 2 uren na receptionering.	
2. De analyse van het staal wordt bijna steeds uitgevoerd (zelfs als het staal buiten de normale tijdsgrens ontvangen wordt: het blijft mogelijk om multipele opmerkingen toe te voegen, die vaak nuttig of onontbeerlijk zijn voor de aanvrager). Enig geval waarin de analyse niet uitgevoerd wordt: een volledig ongeschikt staal: de recipiënt bevat nog sporen van mayonaise, confituur of andere voedingsstoffen...)	
3. Privé labo = talrijke telefonische contacten met de aanvragers: mededeling van de resultaten met eventueel mondelinge vermelding van de uitgesproken reserves of foutenrisico's (cilinders, bacteriële proliferatie,...). Het protocol vermeldt in dit geval datum/uur van de afname.	
<hr/> Totaal	175

- ¹ Eén laboratorium voegde de opmerking toe dat de datum voor de analyse-aanvraag niet noodzakelijk overeenkomt met de datum van de analyse.
- ² Een aantal laboratoria verstrekten een opmerking bij dit voorstel:
- 1) Er zijn andere mogelijkheden: uitvoeren met commentaar + overleg met arts 2) Er zijn richtlijnen waaraan de stalen moeten voldoen zowel binnen labo als voor de aanvrager 3) Verwerpen zonder meer of zelfs niet uitvoeren is niet realistisch in een ambulante setting. Zowel arts als patiënt verwacht een antwoord. 4) De facto weet men quasi nooit tijdstip afname.
 - Staal wordt enkel voor cultuur onderzocht, nadat een poging om een nieuw staal te ontvangen mislukt is (ambulante setting)
 - Aanvragers vermelden nooit het uur van afname. Staal wordt steeds onderzocht en gerapporteerd in functie van het MUO. Verwerpen van een staal wordt zéér moeilijk aanvaard. Algemene richtlijnen van ons labo worden vermeld in ons handboek voor staalafname, cfr. ISO 15189
 - Citaat uit *Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM)*: 'If an improperly handled specimen can not be replaced, document in the final report that the specimen quality may have been compromised'.
 - Wij leveren aan de afdelingen binnen ons hospitaal een afnamesysteem voor urinetubes: een droge tube voor het sediment en een tube die boorzuur bevat voor de cultuur (dit laat toe om de tube gedurende 24 uur te bewaren op kamertemperatuur). Wij gebruiken dit systeem in de verschillende medische centra die met ons samenwerken. In een volgende fase zouden we dit systeem willen invoeren voor onze huisartsen.
 - Het uitvoeren van een controle wordt eveneens aangeraden (opmerking verstrekt door 2 laboratoria)
 - Indien dit zich herhaalt, wordt de arts opgebeld
 - Afhankelijk van het resultaat wordt eventueel een commentaar verstrekt
 - Als wij afname moment kennen
 - Buiten de hemoculturen beschikken wij slechts zeer zelden over gegevens betreffende het tijdstip van afname van bacteriologische stalen.
- ³ Voor 1 laboratorium is de vraag naar een nieuw staal de 1^e optie en de vermelding dat het resultaat met de nodige voorzichtigheid moet geïnterpreteerd worden de 2^e.
- ⁴ Het rapporteren met commentaar gebeurt slechts in uitzonderlijke omstandigheden.
- ⁵ Beide laboratoria vermelden dat het verwerpen van het staal gebeurt voor de gehospitaliseerde patiënten en dat voor de niet-gehospitaliseerde het antwoord verstrekt wordt met de opmerking dat dit met de nodige voorzichtigheid geïnterpreteerd moet worden. Eén van beide laboratoria gebruikt voor de gehospitaliseerden het Monovette®-systeem.
- ⁶ Het laboratorium vermeldt dat het verwerpen van het staal gebeurt voor de gehospitaliseerde patiënten en dat voor de niet-gehospitaliseerde het antwoord verstrekt wordt met de opmerking dat dit met de nodige voorzichtigheid geïnterpreteerd moet worden (met eventueel vraag naar een controlestaal).
- ⁷ Een aantal laboratoria verstrekten een opmerking bij dit voorstel:
- Geen van onderstaande beweringen is van toepassing voor ons. Wij onderzoeken alle stalen, zonder kennis van pre-analytische fase. Deze is in de praktijk ook zeer zelden tot nooit gekend. We voeren op dit staal de door de arts gevraagde onderzoeken uit, zijnde MUO en kweek. Op basis van de resultaten van MUO, in combinatie met resultaat van de kweek wordt beslist om al dan niet een antibiogram uit te voeren (beslissingstabel KUL). Arts wordt niet gecontacteerd. Via commentaar wordt gevraagd ons een nieuw staal te bezorgen indien hiervoor klinische argumenten.
 - En er wordt een controlestaal gevraagd in functie van de resultaten
 - De vervoersomstandigheden naar het laboratorium reflecteren niet noodzakelijk de bewaarcondities. Wij hebben momenteel geen objectieve controle van de bewaarcondities van elk staal. Elk resultaat wordt geïnterpreteerd met het in aanmerking nemen van verschillende factoren. Elk vermoeden van contaminatie en van slechte bewaring wordt op het rapport signaleerd.
 - Met de vermelding: « Besmet staal. Afnamedatum?»
- ⁸ Een aantal laboratoria verstrekten een opmerking bij dit voorstel:
- In geval van groei van een gemengde flora
 - Wij laten urine afnemen op boorzuur
- ⁹ Met de opmerking dat transport max. 2 uur mag duren bij kamertemperatuur.
- ¹⁰ Een aantal laboratoria verstrekten een opmerking bij dit voorstel:
- Zoniet is bijbesmetting niet te onderscheiden van significant voor infectie (criteria van Kass)
 - Jammer genoeg weten wij slechts zelden wanneer het staal afgenomen werd en hoe het bewaard werd
- ¹¹ Verder voegde het laboratorium hier nog volgende opmerkingen aan toe:
- «Urine moet binnen de 4u na afname worden geënt»
 - Personeel van logistieke dienst brengen continu de afnames van polikliniek en kliniek binnen op het labo.
 - De urines worden systematisch in de koelkast geplaatst. Om 11u30 worden MUO en flow en stripaflezing uitgevoerd. Vanaf 13u worden de urines continu ingezet tot 16u30 (= geënt).
 - Na 16u30 worden urines in koelkast geplaatst en nog dezelfde avond (of nacht) geënt.

65 laboratoria vermelden dat zij gepubliceerde richtlijnen gebruiken om hun mening te vormen: 43 vermelden 1 richtlijn, 17 vermelden 2 richtlijnen, 4 vermelden er 3 en 1 laboratorium vermeldt 8 richtlijnen. Een overzicht van de gebruikte richtlijnen wordt gegeven in tabel 7.2.

Eén van de laboratoria die vermelden geen richtlijnen te gebruiken verwijst wel naar het leerproces in de cursus van klinische biologie; een ander labo verwijst naar het handboek van Carbonelle van de SFM.

Tabel 7.2. Gebruikte richtlijnen

Gebruikte richtlijnen	Aantal labo's
CLSI + ECLM + Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM) + Cumitech + Précis de bactériologie clinique (Eska 2e ed Fremy J.) + Manual of Clinical Microbiology (ASM) + A guide to specimen management in clinical Microbiology (ASM)	1
CLSI + ECLM + Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM)	1
Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM) + Cumitech + ander ASM handboek	1
Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM) + Cumitech + REMIC	1
Specimen management in clinical microbiology (ASM) + REMIC + Echantillons biologiques phase préanalytique	1
CLSI + Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM)	2
CLSI + Manual of Clinical Microbiology (ASM)	1
CLSI + REMIC	1
CLSI + Definitie van nosocomiale infecties van de CDC	1
Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM) + Cumitech	4
Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM) + Manual of Clinical Microbiology (ASM)	2
Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM) + A guide to specimen management in clinical Microbiology (ASM)	1
Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM) + Essential procedures for clinical microbiology (Henry Isenberg)	1
Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM) + Cours de microbiologie Prof. Yourasowski	1
Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM) + « Manuel du bon sens »	1
Principles and practice of infectious diseases (Mandell) 6e ed. + Clinical Microbiology (8e ed)	1
Van De Pitte + « Gezond Verstand »	1
CLSI	3
Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM)	26
Cumitech	3
REMIC	3
ISO 15189	2
Phase préanalytique et prélèvement en biologie clinique	1
Tietz clinical guide to laboratory tests 4th edition	1
Workshops bioMérieux	1
SFM	1
Algorithmen in verschillende SOPS gebaseerd op verschillende richtlijnen	1
Niet gepreciseerd	1
Totaal	65

Voor de meest gebruikte richtlijnen geven we in tabel 7.3. een overzicht van de jaargangen die in de laboratoria gebruikt worden.

Tabel 7.2. Jaargangen van de gebruikte richtlijnen

Jaargang	Aantal laboratoria die de richtlijn gebruiken		
	CLSI	Clinical Microbiology Procedures Handbook	Cumitech
1987			1
1992		4	
1995	1	2	
1996		1	
1998		3	2
1999		3	
2001	2		
2003		1	
2004	1	12	
2005	1	2	
2006	1		
2007	2	3	1
2008	1		
«last edition»		1	1
«2d edition»			1
Niet gepreciseerd	1	10	4
Totaal	10	42	10

89 laboratoria (50.9%) hebben binnen het laboratorium schriftelijke richtlijnen voor het verwerpen van urinestalen; 83 (47.4%) hebben deze niet; 3 laboratoria hebben deze vraag niet beantwoord.

Vier van de laboratoria die wel over richtlijnen beschikken, hebben hierbij een opmerking gegeven:

- Algemene richtlijnen van ons labo worden vermeld in ons handboek voor staalafname, cfr. ISO 15189
- De bioloog moet geraadpleegd worden
- Algemene procedure voor niet-conformiteiten
- Maar ze zijn onvoldoende

Vijf van de laboratoria die niet over richtlijnen beschikken, hebben eveneens een opmerking gegeven:

- Want het is in algemene geneeskunde onmogelijk om stalen te verwerpen
- De triage gebeurt steeds in functie van het resultaat
- Behalve:
 - o Urinesondes worden verworpen
 - o Indien we een urinestaal < 10 ml ontvangen vermelden we volgende commentaar: « Resultaat onder reserve, voor een betrouwbaar resultaat is minstens 10 ml urine nodig ».
- Er bestaan wel richtlijnen voor de afname
- Er bestaan wel richtlijnen voor de interpretatie van de cultuur

45 laboratoria (25.7%) hebben schriftelijke richtlijnen voor het verwerpen van urinestalen naar de aanvragers toe; 123 (70.3%) hebben deze niet; 7 laboratoria hebben deze vraag niet beantwoord.

Twee van de laboratoria die wel over richtlijnen beschikken, hebben hierbij een opmerking gegeven:

- Algemene richtlijnen van ons labo worden vermeld in ons handboek voor staalafname, cfr. ISO 15189
- Algemene procedure voor niet-conformiteiten

Acht van de laboratoria die niet over richtlijnen beschikken, hebben eveneens een opmerking gegeven:

- Behalve :
 - o Urinesondes worden verworpen
 - o Indien we een urinestaal < 10 ml ontvangen vermelden we volgende commentaar: « Resultaat onder reserve, voor een betrouwbaar resultaat is minstens 10 ml urine nodig ».
- Indien er duidelijke redenen zouden zijn die de outcome van de cultuur kunnen beïnvloeden zal dat op het protocol vermeld worden
- Voor de externe patiënten: wel een commentaar op het protocol
- Er zijn wel schriftelijke (elektronisch beschikbare) richtlijnen hoe het moet worden afgenomen. Er zijn geen richtlijnen waarin expliciet staat vermeld hoe urinestalen worden verworpen. Er zijn algemene richtlijnen voor het verwerpen van stalen.
- Er bestaan wel richtlijnen voor de afname voor alle stalen
- Er bestaan wel richtlijnen voor de afname
- Er bestaan wel richtlijnen voor afname en bewaring
- Maar ze zijn wel in opmaak

Bij vergelijking van de beschikbaarheid van richtlijnen intern in het laboratorium en extern voor de aanvragers merken we:

- 43 laboratoria hebben zowel interne als externe richtlijnen
- 82 laboratoria hebben noch interne noch externe richtlijnen
- 41 laboratoria hebben wel interne maar geen externe richtlijnen
- 1 laboratorium heeft geen interne maar wel externe richtlijnen
- 5 laboratoria hebben interne richtlijnen en lieten het antwoord open op de vraag of ze externe richtlijnen hebben
- 1 laboratorium heeft externe richtlijnen en liet het antwoord open op de vraag of het interne richtlijnen heeft
- 2 laboratoria lieten het antwoord op beide vragen open

7.2. Commentaar

Tot nog toe heeft dit programma van externe kwaliteitsevaluatie in de microbiologie enkel de analytische fase onderzocht. Volgens het KB van 3/12/1999 betreffende de erkenning van de laboratoria voor klinische biologie is het nochtans de verantwoordelijkheid van de laboratoria om ook toezicht te houden op de preanalytische en de postanalytische procedures.

Met deze theoretische casus was het de bedoeling de aandacht van de klinisch biologen te trekken op de preanalytische fase. Er werd beslist om een urinemonster te kiezen, omdat verkeerde interpretatie van urinekweken leidt tot overconsumptie van antibiotica indien de patiënt geen urineweginfectie heeft.

Het opstellen van het multiple choice model (nodig om de analyse mogelijk te maken) was niet eenvoudig. Het grote aantal vrije antwoorden en commentaren toont aan dat een uniform antwoord op de gestelde vraag niet evident was en dat alle mogelijkheden niet vermeld waren.

De analyse is complex maar levert veel nuttige informatie.

Zonder te ver in detail te willen gaan kon men uit de klinische informatie (zie hoger) de volgende conclusies trekken:

- Het monster was ongeveer 12 uur geleden afgenomen, zonder bijzondere afname modaliteiten.
- Het monster werd zeer waarschijnlijk niet gekoeld bewaard.

Een aantal laboratoria heeft reeds hierop opmerkingen:

- Een labo dat enkel werkt voor gehospitaliseerde patiënten beweert niet met dit probleem geconfronteerd te worden. Dit trekken we sterk in twijfel: ook in de ziekenhuizen blijft soms een monster ergens liggen. Waakzaamheid is ook in de ziekenhuissituatie wenselijk.
- Eén laboratorium merkt op dat de ingevulde afnamedatum niet noodzakelijk overeenkomt met de reële datum van de afname. Alle klinisch biologen weten dat sommige aanvragende artsen de afnamedatum invullen terwijl het nog niet geweten is wanneer het monster werkelijk zal afgenomen worden. Om dit te vermijden wordt op veel aanvraagformulieren gevraagd de aanvraagdatum in te vullen, maar dit belet niet dat vaak ook de afnamedatum bij voorbaat wordt ingevuld.
- Twee labo's vermelden dat ze transportbuisjes met boorzuur leveren en dat deze monsters 24 uur op kamertemperatuur kunnen bewaard worden (zie verder). Dit punt is zeer interessant; echter: er werd niet gevraagd naar de eigen praktijk, maar naar de houding in het beschreven geval.

Slechts een minderheid van de labo's verwerpen het monster, terwijl de meeste andere labo's op het rapport vermelden dat het resultaat met de nodige voorzichtigheid moet geïnterpreteerd worden.

Een kleine minderheid ageert op meer betwistbare wijze: 1° enkele laboratoria zouden de analyse uitvoeren zonder waarschuwing op het rapport 2° enkele laboratoria rapporteren i.f.v. het MUO resultaat. Zelfs deze laatste houding kunnen we niet goedkeuren: ook in geval van leukocyturie zullen commensale bacteriën prolifereren en mogelijk het echte pathogeen overgroeien.

Twee labo's vermelden dat ze MUO uitvoeren maar niet de kweek. Dit is een interessante benadering, maar men moet weten dat ook een MUO resultaat kan beïnvloed worden door slechte bewaring, in het bijzonder het aantal RBC (onderschatting door lyse maar ook overschatting door ontstaan van artefacten indien een flow cytometer gebruikt wordt).

Het laboratorium dient schriftelijke richtlijnen ter beschikking te stellen van de personen die met de afname van de monsters belast worden. In het geval van urineafnames worden vaak de monsters buiten de lokalen van het laboratorium afgenomen. De aanvragende artsen dienen dan over duidelijke schriftelijke richtlijnen te beschikken over de voorbereiding van de patiënt, de afname techniek en de bewaring van de monsters vóór en tijdens transport naar het laboratorium (inclusief temperatuur en duur). Een aantal Belgische laboratoria heeft zulke richtlijnen op hun website geplaatst.

Bij receptie van de monsters in het laboratorium moeten alle afnamen gecheckt worden voor conformiteit met deze richtlijnen, inclusief op administratief vlak (o.a. ondubbelzinnige identificatie van de patiënt!). Het personeel moet beschikken over schriftelijke richtlijnen i.v.m. de te volgen procedure bij vaststelling van non-conformiteiten.

Zoals reeds hierboven vermeld is het bijzonder moeilijk om echt te beoordelen of urinemonsters adequaat afgenomen en getransporteerd werden, maar het is de plicht van het laboratorium om bij de minste twijfel een commentaar op het rapport te voorzien over de voorzichtigheid waarmee het resultaat moet geïnterpreteerd worden, of zelfs om het monster te verwerpen in de meest extreme gevallen. Een voorbeeld hiervan wordt door één van de deelnemers gegeven: een urinemonster in een niet-steriele recipiënt mag in geen geval aanvaard worden. De patiënt moet altijd geïnstrueerd worden om uitsluitend steriel materiaal, dat altijd te verkrijgen is in het labo, te gebruiken.

Een grote variëteit aan gepubliceerde richtlijnen werden door de deelnemers geconsulteerd voor het vestleggen van de eigen praktijk. De meest gebruikte referentie is de *Clinical Microbiology Handbook* (ASM), gevolgd door Cumitech 2B en de CLSI richtlijn GP16-A2. Er is nochtans een zeer interessant Europees document, de *European Urinalysis Guidelines*, gepubliceerd onder de auspiciën van de European Confederation of Laboratory Medicine (ECLM) (*Scand J Clin Lab Invest* 2000; 60: 1-96). Dit zeer gedetailleerde document geeft figuren met instructies voor urineafname volgens de mid-stream techniek.

Voor wat betreft het transport geven al deze documenten gelijkaardige aanbevelingen: een korte bewaring op kamertemperatuur is toegestaan, maar indien een periode van meer dan 2 uur verloopt vóór behandeling van het monster, moet het in de koelkast bewaard worden. Als alternatief kan een boorzuurplossing gebruikt worden om het monster zonder afkoeling te bewaren, maar men moet weten dat boraat de groei van *Pseudomonas spp.* inhibeert en dat het volume aan urine voldoende moet zijn om te hoge concentraties boorzuur te vermijden die ook andere bacteriën zullen inhiberen.

Om te besluiten willen we onderstrepen dat schriftelijke richtlijnen door het labo ter beschikking moeten gesteld worden van de voorschrijvers maar ook van het eigen personeel voor wat betreft patiëntenvoorbereiding, afname en transport van de monsters. Bij ontvangst van het monster in het laboratorium dienen deze voorwaarden gecheckt te worden (conformiteitscontrole). Verwerpingscriteria dienen beschikbaar te zijn evenals een procedure voor het verwerken van mineure non-conformiteiten die aanleiding moeten geven tot een commentaar bij het bekomen resultaat.

Denis Pierard, UZ VUB, Brussel