

## Inhoudstafel

---

I.	ALGEMENE BEMERKINGEN	3
1.1	Vier gelyofiliseerde monsters voor identificatie.	3
1.2	Twee geformaliseerde fecesstalen voor parasitologisch onderzoek	3
1.3	4 plasmamonsters	3
II.	IDENTIFICATIE	4
2.1	Cultuur M/5375 <i>Clostridium perfringens</i> .	4
2.2	Cultuur M/6085 <i>Moraxella catarrhalis</i>	6
2.2.1.	Klinische aspecten	6
2.2.2.	Laboratoriumtechnieken	9
2.3	Cultuur M/7314 <i>Streptococcus mitis/oralis</i> .	13
2.4	Cultuur M/4088 <i>Staphylococcus aureus</i> (hemocultuur)	17
2.5	Addendum: <i>E. coli</i> M/8519, verstuurd in de enquête 2008/2 naar de laboratoria met onpaar erkenningsnummer.	22
III.	RESULTATEN VAN DE IDENTIFICATIES (N = 176)	23
3.1.	Cultuur M/5375 <i>Clostridium perfringens</i> (wonde)	23
3.2.	Cultuur M/6085 <i>Moraxella catarrhalis</i> (sputum)	23
3.3.	Cultuur M/7314 <i>Streptococcus mitis/oralis</i> (hemocultuur)	24
3.4.	Cultuur M/4088 <i>Staphylococcus aureus</i> (hemocultuur)	25
IV.	ANTIBIOGRAM	26
4.1.	Cultuur M/7314 ( <i>Streptococcus mitis</i> )	26
4.2.	Cultuur M/4088 ( <i>Staphylococcus aureus</i> )	39
V.	PARASITOLOGIE	50
5.1.	De monsters	50
5.2.	Resultaten	51
5.2.1	Staal P/8374	51
5.2.2	Staal P/8935	57
5.3.	Commentaar betreffende <i>C. mesnili</i>	58
VI.	SEROLOGIE	63
6.1.	Beschrijving van de monsters	63
6.2.	Syfilis	64
6.2.1	De deelnemers	64
6.2.2	Gebruikte reagentia	66
6.2.3	Resultaten	68
6.2.3.1	Staal S/6973	68
6.2.3.2	Staal S/8823	69
6.2.4	Commentaar op de resultaten van het onderzoek	81

6.3.	<i>HIV</i>	89
6.3.1	De deelnemers	89
6.3.2	Gebruikte reagentia	90
6.3.3	Resultaten	91
6.3.3.1	Staal S/6626	91
6.3.3.2	Staal S/7735	94
6.3.4.	Commentaar op de resultaten van het onderzoek	95
6.4.	RSV antigen	96
6.4.1.	De deelnemers	96
6.4.2.	Gebruikte reagentia	96
6.4.3.	Resultaten	97
6.4.4.	Commentaar op de resultaten van het onderzoek	97

## I. ALGEMENE BEMERKINGEN

Voor de 3<sup>e</sup> evaluatie van het jaar 2008 (enquête 2008/3) werd volgend materiaal verzonden op 7 oktober 2008.

### **1.1 Vier gelyofiliseerde monsters voor identificatie.**

Voor 2 monsters werden de resultaten van de gevoeligheidstesten gevraagd

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

### **1.3 4 plasmamonsters**

voor de bepaling van HIV en Syfilis en materiaal voor bepaling van het RSV-Antigen..

## AANTAL DEELNEMERS

Het aantal evalueerbare antwoordbulletins bedroeg:

1.	Voor identificatie en antibiogram:	176
2.	Voor parasitologie :	175
3.	Voor de serologie	
	HIV :	175
	Syfilis:	162
	RSV-Ag:	103

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

## II. IDENTIFICATIE

### 2.1 Cultuur M/5375 *Clostridium perfringens*.

Het genus *Clostridium* bevat meer dan 200 species, maar slechts enkele veroorzaken infecties bij de mens. *C. perfringens* is de meest frequent voorkomende species in klinische monsters, behalve in feces.

Op microscopisch onderzoek ziet er *C. perfringens* er meestal uit als dikke, rechthoekige of afgeronde niet gesporuleerde Grampositieve staven, gewoonlijk geassocieerd aan andere bacteriën. Bij oudere kweken ontkleuren de staven gemakkelijker, maar dit fenomeen is minder uitgesproken dan bij andere clostridia en het is meestal niet nodig de gevoeligheid aan vancomycine te testen om het Grampositieve karakter te bevestigen. Het micro-organisme vormt nooit sporen in weefsels en slechts moeilijk in kweek. Het gaat om geen al te strikte anaëroob, die gemakkelijk te kweken is, zelfs indien de anaërobie niet perfect is. Het micro-organisme vormt grote ronde gladde kolonies op bloedagar met een duidelijke zone van hemolyse na 24 uur. De identificatie berust hoofdzakelijk op het verschijnen van een karakteristiek fenomeen van dubbele hemolyse na langere incubatie: een heldere binnenhalo wordt door een zone van onvolledige hemolyse omringd. Indien dit niet duidelijk is kan men ook nagaan of de omgekeerde Camp-test positief is. Enkele kenmerken zoals de positieve gelatinase en lecithinase reacties op egg yolk agar en negatieve indol reactie zijn dan voldoende om de identificatie te bevestigen. De meerderheid van de laboratoria gebruikt wel één van de talrijke commerciële kits voor snelle identificatie van anaëroben op basis van chromogene of fluorogene substraten. De resultaten voor deze species zijn uitstekend terwijl hun performantie voor de correcte identificatie van andere clostridia tot op species niveau beperkt is. Het is wel van essentieel belang om met een reïncultuur te werken, wat niet altijd gemakkelijk is vertrekkende van de vaak gemengde anaërobe kweken.

*C. perfringens* is meestal zeer gevoelig aan antibiotica: terwijl isolaten van *C. ramosum*, *C. innocuum* en *C. clostridioforme* met  $\beta$ -lactamase en/of clindamycine resistentie regelmatig aangetroffen worden, blijft *C. perfringens* meestal gevoelig.

*C. perfringens* is zeer verspreid aanwezig in de omgeving, o.a. in de bodem. Het is ook een component van de normale darmflora en de meeste infecties zijn endogeen, vaak te wijten aan onvoldoende hygiëne.

*C. perfringens* speelt een majeure rol in myonecrose of gasgangreen, waar spierweefsel afgebroken wordt onder invloed van krachtige exotoxines, in het bijzonder alfatoxine (fosfolipase C) en thetatoxine (thiol geactiveerde cytolytine). *Clostridium* myonecrose evolueert snel met shock, nierinsufficiëntie en soms bacteriëmie. De mortaliteit is hoog. De oorzaak is meestal de besmetting van een diepe onregelmatige wonde. De aandoening kan ook het gevolg zijn van een abortus gepleegd in slechte hygiënische omstandigheden of van een intramusculaire inspuiting van adrenaline.

Er zijn drie stadia van *Clostridium* wondinfecties: eenvoudige kolonisatie zonder infectietekens, cellulitis, waarbij de infectie tot de fascia beperkt is zonder aantasting van de spieren en met minimale toxine productie en uiteindelijk myonecrose van de gezonde spier met ernstige toxemie. In aanwezigheid van weefselanoxie kan de evolutie naar de laatste stadia zeer snel gaan. Vaak worden meerdere *Clostridium* species afgezonderd. De diagnose is hoofdzakelijk klinisch, maar het rechtstreeks onderzoek is zeer belangrijk om het onderscheid met aërobe streptococce myositis te maken. De behandeling bestaat uit uitgebreide heekkundige resectie van aangetaste weefsels, met hyperbare zuurstoftherapie (controversiële efficiëntie, slechts aanvullend) en een combinatie van penicilline en clindamycine, die de productie van toxines inhibeert.

*Clostridium* bacteriëmie is vaak te wijten aan andere soorten zoals *C. septicum* en *C. tertium*. *C. perfringens* is aanwezig op de huid van de voorarm van 20% van de individuen en de aanwezigheid van dit micro-organisme in bloedkweken is vaak een contaminatie.

Tenslotte kan *C. perfringens* type A voedseltoxi-infecties veroorzaken na consumptie van bereide gerechten, vooral vlees of vleesproducten, die te traag afgekoeld en in anaerobe omstandigheden werden na het kookproces (bv onder een laagje vet), zodanig dat overlevende sporen de kans krijgen om zich te vermenigvuldigen. De ziekte ontstaat bij inname van voedsel met  $10^6$  of meer leefbare bacteriën per gram, die in de dunne darm sporuleren en enterotoxine produceren. Plotse kolieken met veel gasvorming en daarna diarree ontstaan 8 tot 24 uur na de maaltijd. De ziekte is goedaardig en van korte duur. De diagnose wordt gesteld door kweek en bepaling van het gen dat codeert voor toxine A van het isolaat uit feces en voedsel (cf. referentielab voor voedselvergiftigingen, WIV).

Denis Pierard, UZ VUB, Brussel, Katelijne Dierick, WIV, Brussel

## 2.2 Cultuur M/6085 *Moraxella catarrhalis*

### 2.2.1. Klinische aspecten

*Moraxella catarrhalis* is een mogelijke pathogeen in geval van otitis, sinusitis, surinfecties van chronische bronchitis of, zeldzamer, bij community acquired pneumonia.

Hoewel menginfecties eveneens bestaan, erkent men momenteel de mogelijkheid dat deze kiem kan optreden als enige verwekker van NKO-infecties. Wanneer men het percentage remissies zonder *sequellen* bekijkt en in geval er geen antibiotica-behandeling ingesteld werd, is globaal gesproken - en zeker in geval van otitis - de virulentie van *M.catarrhalis* geringer dan deze van *H.influenzae* of *S.pneumoniae*.

*M.catarrhalis* speelt een belangrijke rol (van dezelfde grootte-orde als *S.pneumoniae*) bij de bacteriële surinfecties van COPD. Meer en meer wordt aangenomen dat deze te wijten zijn aan de besmetting met een nieuwe bacteriële kiem, die nog onbekend is voor de humorale immuniteit van de patiënt (*H.influenzae* wordt in de meeste studies beschreven als de frequentste verwekker van deze surinfecties).

Een antibiotica-behandeling van de milde tot ernstige vormen van surinfecties wordt in meta-analyses geassocieerd met een sneller gunstig verlopende evolutie; er is echter geen invloed op de mortaliteit, tenzij bij patiënten die kunstmatig beademd worden. Voor deze patiënten wordt (gebaseerd op de 3 klinische argumenten uit het artikel van Anthonisen en eventueel op het stadium van de patiënt in de GOLD classificatie), een antibioticatherapie in overweging genomen, aangeraden of aanbevolen naar gelang de organisaties die aan de basis liggen van de richtlijnen. Desondanks beïnvloedt het type ingestelde antibioticatherapie (eerste lijn van het type amoxicilline,...of tweede lijn van het type amoxi/clav, cefuroxime axetil, fluoroquinolone,...) de mortaliteit niet, noch is het een bepalende factor voor klinisch succes.

*M.catarrhalis* vertoont ten andere in ons land een stabiel resistentiefenotype, met een amoxicilline-resistentie van 75-80% en een gevoeligheid van nagenoeg alle stammen aan de antibiotica die klassiek gebruikt worden in de behandeling van luchtwegeninfecties.

Uit het voorgaande volgt dat de clinicus meer geïnteresseerd zal zijn in het aantonen van kiemen die virulenter zijn en/of een minder stabiele of voorspelbare resistentie vertonen dan *M.catarrhalis*. Hij zal enkel geïnteresseerd zijn in de aanwezigheid ervan in sputa van goede kwaliteit (vb: WBC  $\geq$  ++ met epitheelcellen  $\leq$  + ) en als de kiem alleen voorkomt (iets wat een eventuele behandeling met antibiotica "rechtvaardigt"); hij zal er echter veel minder belang aan hechten

indien *H.influenzae* en/of *S.pneumoniae* eveneens worden aangetoond in de cultuur of bij het rechtstreeks microscopisch onderzoek.

Dr Yves Van Laethem CHU Saint-Pierre

## REFERENTIE

Anthonisen NR. Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Can Respir. J.* 2007 oct;14(7):432-4



## 2.2.2. Laboratoriumtechnieken

### Taxonomie, voorkomen en kenmerken.

*M.catarrhalis* is een gram-negatieve diplococ met een bewogen taxonomische geschiedenis en behoorde opeenvolgend tot het genus *Micrococcus*, *Neisseria*, *Branhamella* en tenslotte *Moraxella*. In het genus *Moraxella* vinden we o.m. *M. catarrhalis*, *M.cinerea*, *M.lacunata*, *M.bovis*, *M.osloensis*, *M.phenylpyruvica* en de recent geclaimde species *M.canis*. De morfologie van het genus is variabel: bevat coccen zowel als coccoïde staven. De taxonomische verwantschap is nauwer met *Acinetobacter* spp. dan met *Neisseria* species.

*M.catarrhalis* koloniseert de bovenste luchtwegen van de mens, het enige reservoir van dit micro-organisme. De bacterie behoort met *S.pneumoniae* en *H.influenzae* tot het 'infernal trio' van de verwekkers van bovenste luchtweginfecties (bronchitis, sinusitis, otitis,...) en kan in uitzonderlijke omstandigheden pneumonie, bacteriëmie, endocarditis en meningitis veroorzaken. Opvallend is de seizoensgebondenheid: in de zomermaanden wordt de bacterie nauwelijks nog afgezonderd uit klinische monsters.

Kenmerken van *M. catarrhalis* zijn:

- gram-negatieve (diplokokken) morfologie op gramkleuring (alhoewel de ontkleuring vaak niet zo goed slaagt, en de bacterie soms gram-positief kan lijken)
- oxidase +
- DNase +
- nitraat en nitriet +
- asaccharolytisch
- afwezigheid van pigment
- geen groei op Thayer-Martin (toch niet zo betrouwbaar).
- Tributyrine: kan getest worden met een chromogeen (indoxyl-butyraat) (bv Diatabs (ROSCO)), zowel als fluorogeen (4-methylumbelliferyl-butyraat) substraat, met beide mogelijkheden beschikken we over een sneltest (i.t.t. DNase)
- Kolonie-morfologie: de bacterie vormt op bloedagar witte niet-hemolytische kolonies die gemakkelijk opschuiven bij het aanraken met een entnaald (vandaar de beschrijvingen hockey-puk fenomeen, 'schuivers'...).

In de praktijk kan men isolaten die afkomstig zijn van respiratoire stalen vermoeden door kolonie-morfologie, evt. een positieve oxidase (en evt. microscopisch uitzicht na gram), en dan bevestigen met een DNase of een tributyrine test.

Het nagaan van nog meer identificatiekenmerken is wellicht belangrijk bij ongewone locaties, zoals een hemokultuur, en minder typische stammen en/of het gebrek van lokale ervaring met deze bacterie. Naast klassieke fysiologische testen kan men beroep doen op commerciële tests/kits/systemen zoals een API NH.

Een efficiënte selectieve bodem werd ontworpen door M. Vaneechoutte, bestaande uit een bloedagar, met trimethoprim, vancomycine en amphotericine B, en met acetazomide als inhibitor van andere *Neisseriae spp.* (mag niet in CO<sub>2</sub> geïncubeerd worden), nuttig voor het opzoeken van *M.catarrhalis* in mengflora's.

### **Gevoeligheid voor antibiotica en het testen ervan.**

In de loop van de laatste decennia is een steeds groter deel van de *M.catarrhalis* isolaten resistent geworden aan penicillines door  $\beta$ -lactamase productie. Het percentage  $\beta$ -lactamase producers bedraagt nu 80 tot 90 %, waardoor de bacterie nu beschouwd wordt als resistent aan penicilline en ampicilline-amoxycilline. Deze  $\beta$ -lactamasen zijn overwegend BRO-1 en BRO-2.

Het belang van  $\beta$ -lactamase producerende bacteriën (*Moraxella*, maar ook anaerobe gram-negatieve staven) in de keelholte wordt ook beschreven als oorzaak van het mislukken van antibiotische therapie met penicilline en amoxycilline voor op zich gevoelige species zoals pneumokokken, *H.influenzae*, *S.pyogenes* (indirecte pathogeniciteit), maar de klinische relevantie hiervan blijft wellicht een bron van discussie.

Er zijn geen technieken en interpretatie-criteria beschreven voor het antibiogram van *M.catarrhalis*, noch door CLSI, noch door bv. de société française de microbiologie.

In Eucast wordt de wild-type gevoeligheid beschreven van de soort, en je kunt erin vinden dat dit species gevoelig is aan courante antibiotica (niet aan glycopeptiden, geen gegevens voor aminosiden): epidemiologische breekpunten.

Wat de klinische breekpunten betreft: voor de  $\beta$ -lactam antibiotica worden alleen species-specifieke breekpunten gegeven voor de penicillines, en dit met de belangrijke melding dat, gezien het grootste deel van de huidige isolaten niet wild-type zijn, maar wel  $\beta$ -lactamase produceren, ze beschouwd kunnen worden als resistent aan penicillines en aminopenicillines zonder  $\beta$ -lactamase-remmer. Voor de meeste andere antibiotica (uitz glycopeptiden zijn niet actief, en er zijn geen gegevens over de aminosides) komen de klinische breekpunten samen

of liggen juist onder de epidemiologische (wild-type stammen zijn dus gevoelig).

Buiten het probleem van  $\beta$ -lactamase productie blijkt er geen noemenswaardige klinische resistentie te zijn ontstaan voor andere antibiotica in klinische isolaten (ref: Sahm e.a.)

G.Claeys, labo klinische biologie, microbiologie, UZGent

## Literatuur en websites :

*Branhamella catarrhalis*: an organism gaining respect as a pathogen. B W Catlin Clin Microbiol Rev. 1990; 3(4): 293-320.

*Moraxella catarrhalis* : from emerging to established pathogen. C M Verduin, C Hol, A Fler, H van Dijk, A. van Belkum. Clin Microbiol Rev. 2002 ; 15 (1): 125 - 144.

Antimicrobial susceptibility profiles among common respiratory tract pathogens: a GLOBAL perspective Sahm DF, Brown NP, Thornsberry C, Jones ME.. [Postgrad Med.](#) 2008 Sep; 120(3 Suppl 1):16-24

Eucast : [http://www.escmid.org/research\\_projects/eucast/clinical\\_breakpoints/](http://www.escmid.org/research_projects/eucast/clinical_breakpoints/)

Rapid identification of *Branhamella catarrhalis* with 4-methylumbelliferyl butyrate. Vanechoutte M, Verschraegen G, Claeys G, Flamen P. J Clin Microbiol. 1988; 26(6):1227-8.

Selective medium for *Branhamella catarrhalis* with acetazolamide as a specific inhibitor of *Neisseria* spp. Vanechoutte M, Verschraegen G, Claeys G, van den Abeele AM. [J Clin Microbiol.](#) 1988; 26(12):2544- 2548

### 2.3 Cultuur M/7314 *Streptococcus mitis/oralis*.

Cultuur M/7314 is een *Streptococcus mitis* die geïsoleerd werd uit hemoculturen van een patiënte met acute lymfatische leukemie. Op het ogenblik van de afname van de hemoculturen had ze een ernstige granulopenie met uitgesproken mucositis.

*S. mitis* behoort tot de *Streptococcus mitis* groep. Tot dezelfde groep behoren eveneens andere  $\alpha$ -hemolytische streptokokken zoals *S. sanguinis*, *S. parasanguinis*, *S. oralis*, *S. gordonii*, *S. cristatus* en ook *S. pneumoniae*. Phylogenetisch evolueerden deze verschillende species uitgaande van een "pneumococcus-like bacterie" met progressief verlies van virulentiefactoren (polysaccharidenkapsel, pneumolysine, autolysine, IgA protease) waardoor ze zich aanpasten tot een commensale relatievorm met de humane gastheer <sup>1</sup>. Aangezien *S. mitis* geen extracellulair polysaccharide aanmaakt, vindt men meestal droge kolonies.

Correcte identificatie van deze groep van viridans streptokokken tot op species niveau is niet eenvoudig. Vooral het onderscheid tussen *S. mitis*, *S. oralis* en *S. infantis* is dikwijls moeilijk met de beschikbare biochemische tests. Daarom kunnen identificaties als *S. mitis/S. oralis*, *S. mitis*, *S. mitis* groep als correct geaccepteerd worden. In de meest recente uitgave van de Manual of Clinical Microbiology (9th Edition, 2007) lezen we immers "Since correlation of the renamed Streptococcal species with human infections is still difficult, we chose to present these species as part of the *S. mitis* group until further information becomes available". Taxonomisch gezien is het antwoord *S. oralis* (26.1% van de deelnemers) niet correct; gezien echter ook 16 S sequencing slechts een identificatie tot het niveau *S. mitis/oralis* groep toelaat, kunnen we het antwoord *S. oralis* dan ook niet als volledig fout beschouwen. Differentiatie tussen *S. mitis* en *S. pneumoniae* wordt soms bemoeilijkt door het vinden van een inhibitiezone rond het optochineschijfje. De volgende eigenschappen waren kenmerkend voor het micro-organisme: arginine-hydrolyse (negatief), hippuraat-hydrolyse (negatief), aesculine-hydrolyse (negatief), Voges-Proskauer (negatief), urease-productie (negatief). In Facklambodem verzuring van lactose, maar niet van mannitol en sorbitol.

Identificatie tot op species niveau is slechts nodig voor stammen die uit hemoculturen of andere normaal steriele lichaamsvochten geïsoleerd worden bij patiënten met endocarditis of neutropenie. Bij de normale gastheer is bacteriëmie met viridans streptokokken van zeer korte duur. Bij de neutropene patiënt kan de bacteriëmie langdurig zijn en gaat - vooral bij *S. mitis* - gepaard met evolutie naar "Acute Respiratory Distress Syndrome" <sup>2</sup>.

Met de API 20 Strep bekwam men eveneens een correcte identificatie (code 0270400 *Streptococcus mitis* 1 60.4% ID, *S. oralis* 36.3% ID). Analyse met het Vitek 2 toestel en de nieuwe colorimetrische GP kaart genereerde een identificatie *S. mitis/S. oralis* (probabiliteit 99%). De database van Vitek 2 bevat thans 33 verschillende streptokokkenspecies<sup>3</sup>.

Een recente publicatie waarbij identificaties met API 20 Strep, API rapid ID 32 Strep System en het Phoenix toestel vergeleken wordt met resultaten van moleculaire technieken voor stammen van de *S. mitis* groep rapporteert toch enkele discordanties<sup>4</sup>.

De opgestuurde stam was resistent tegen penicilline en derde generatie cefalosporines. Dit correcte resultaat werd gerapporteerd door 126 van de 165 laboratoria (76.4%) (cfr. tabel 4.1.1 in hoofdstuk 4). Volgens CLSI is gebruik van de disk-diffusietechniek voor penicilline en ampicilline niet aanvaardbaar voor het uitvoeren van een antibiogram op viridans streptokokken die uit normaal steriele lichaamsvochten worden geïsoleerd. Het is dan ook in feite niet correct om een resultaat met de diskdiffusietechniek te rapporteren voor penicilline en derde generatie cefalosporines. MIC-bepaling met één of andere methode dringt zich hier op. Voor  $\beta$ -lactam antibiotica worden door CLSI en Eucast de volgende breekpuntconcentraties voorgesteld.

		Gevoelig	Intermediair	Resistent
Penicilline	CLSI	$\leq 0.12$	0.25 - 2	$\geq 4$
	Eucast	$\leq 0.25$	0.5 - 2	$\geq 4$
Ampicilline	CLSI	$\leq 0.25$	0.5 - 4	$\geq 8$
	Eucast	$\leq 0.5$	1 - 2	$\geq 4$
Cefotaxime	CLSI	$\leq 1$	2	$\geq 4$
	Eucast	-	-	-
Ceftriaxone	CLSI	$\leq 1$	2	$\geq$
	Eucast	-	-	-

De MIC-bepaling kan bijvoorbeeld uitgevoerd worden op bloedagar met de E-test en incubatie op 36°C in een atmosfeer met 5% CO<sub>2</sub>. Voor de  $\beta$ -lactam antibiotica werden door de experts de volgende resultaten ingestuurd:

- Penicilline (1x2 mg/L, 1x3 mg/L, 4x4 mg/L, 1x8 mg/L)
- Cefotaxime (1x2 mg/L, 1x3 mg/L, 1x4 mg/L)
- Ceftriaxone (2x3 mg/L, 1x4 mg/L, 1x8 mg/L)

Bij de 64 deelnemers die voor de MIC-bepaling E-test gebruikten (cfr. tabel 4.1.4. in hoofdstuk 4) en die allemaal een MIC van >1.5 mg/L rapporteerden, zijn er 8 die een resultaat 'intermediair' vermelden. Vijf en twintig deelnemers vonden een MIC voor penicilline van > 8 mg/L, 6 laboratoria zelfs een MIC van > 32 mg/L. Deze laboratoria hebben waarschijnlijk een probleem met de kwaliteit van hun E-test.

De gebruikers van Vitek 2 en Phoenix (cfr. tabellen 4.1.6. en 4.1.8. in hoofdstuk 4) rapporteerden ook meestal resistentie tegen penicilline met als meest vermeldde MIC waarde  $\geq 2$  mg/L respectievelijk 8 mg/L. We dienen wel op te merken dat het toestel Vitek niet gevalideerd is voor de viridans streptokokken.

Al de laboratoria vonden zowel met de disk diffusie als met MIC bepaling gevoeligheid voor vancomycine.

Er bestaan geen richtlijnen noch van CLSI, noch van Eucast voor het uittesten van de gevoeligheid voor aminoglycosiden op viridans streptokokken.

De SFM heeft daarentegen wel een verwijzing naar de bepaling van gevoeligheid van aminoglycosiden voor de streptokokken. Tevens worden de laboratoria vaak geconfronteerd met vragen van de clinici. Het lijkt ons een goede suggestie dat de laboratoria het antwoord omtrent de gevoeligheid van de streptokokken voor aminoglycosiden (meer bepaald de synergie tussen aminoglycosiden en penicillines of glycopeptiden) onder reserve zouden antwoorden.

Jan Verhaegen, UZ Gasthuisberg

## REFERENTIES

1. Mogens Killian, Knud Poulsen, Trinelise Blomqvist, Leiv S. Haverstein, Malene Bek-Thomsen, Hervé Tettelin, uffe B. S. Sorensen. Evolution of *Streptococcus pneumoniae* and Its Close Commensal Relatives. PLoS ONE July 2008; volume 3; issue 7; e2683.
2. Xiang Y. Han, Mallika Kamana, Kenneth V. I. Rolston. Viridans Streptococci Isolated by Culture from Blood of Cancer Patients: Clinical and Microbiologic Analysis of 50 Cases. Journal of Clinical Microbiology Jan. 2006; volume 44; issue 1; 160-165.
3. Marjo Haanperä, Jari Jalava, Pentti Huovinen, Olli Meurman, Kaisu Rantakokko-Jalava. Identification of Alpha-Hemolytic Streptococci by Pyrosequencing the 16S rRNA Gene and by Use of Vitek 2. Journal of Clinical Microbiology Mar. 2007; volume 45, issue 3; 762-770.
4. Gioconda Brigante, Francesco Luzzaro, Alessia Bettacini, Gianluigi Lombardi, Francesca Meacci, Beatrice Pini, Stefania Stefani, Antonio Toniolo. Use of the Phoenix Automated System for Identification of *Streptococcus* and *Enterococcus* spp. Journal of Clinical Microbiology Sept. 2006; volume 44; issue 9; 3263-3267.



## 2.4 Cultuur M/4088 *Staphylococcus aureus* (hemocultuur)

Aantal deelnemers = 176

Op twee na hebben alle laboratoria de stam correct geïdentificeerd. Eén laboratorium gaf geen antwoord. De stam vertoonde het karakteristieke profiel van het species.

Het antibiogram werd met manuele of automatische technieken uitgevoerd voor oxacilline, de aminoglycosiden, de chinolonen en vancomycine. Bepaalde laboratoria hebben niet tegen alle antibiotica de gevoeligheid bepaald.

De correcte bepaling van de gevoeligheid voor oxacilline is onontbeerlijk voor de therapeutische keuze van de clinicus. Oxacilline-resistentie is te wijten aan het verwerven van een « Penicillin Binding Protein » (PBP2a) wat leidt tot een kruisresistentie tegen alle  $\beta$ -lactam antibiotica. De synthese van het PBP2a wordt gecodeerd door het *mecA* dat deel uitmaakt van een bijkomend fragment van het chromosoom van de Stafylokok genaamd Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*); dit laatste met een variabele grootte van 21 tot 60 kb. De expressie van de oxacilline-resistentie kan gebeuren op een homogene manier, waarbij de volledige populatie resistent is, of op een heterogene manier, waar slechts een deel van de populatie (1 bacterie op 10<sup>4</sup> à 10<sup>7</sup>) deze resistentie tot expressie brengt. Het aantonen van stammen met een hetero-resistentie kan het laboratorium voor problemen stellen.

De testen uitgevoerd door het referentiecentrum, bewezen dat de stam van de EKE oxacilline-resistent was; dit werd bevestigd door het aantonen van de aanwezigheid van het *mecA* gen via PCR<sup>8</sup>.

Op uitzondering van één laboratorium na (zeer ernstige fout) hebben alle laboratoria de oxacilline-resistentie correct aangetoond, ongeacht of zij gebruik maakten van schijfjes of van geautomatiseerde technieken als Vitek 2, Phoenix of ATB. De resultaten van de enquête tonen geen significant verschil aan tussen de gebruikers van oxacilline- of cefoxitine-schijfjes.

Sinds 2006, raadt de CLSI aan om de oxacilline-gevoeligheid te testen met behulp van een cefoxitine-schijfje van 30  $\mu$ g of een oxacilline-schijfje van 1  $\mu$ g, op een Mueller-Hinton bodem (MH) (niet met NaCl aangerijkt), geïncubeerd op 35°C ( $\pm$  2°C) gedurende 24 uur<sup>1</sup>. Het gebruik van een cefoxitine-schijfje is gevoeliger om hetero-resistente *S. aureus* stammen te detecteren ongeacht de gebruikte methode<sup>9,10</sup>. Stammen met een diameter kleiner 22 mm zijn resistent tegen cefoxitine. We moeten opmerken dat de Société Française de Microbiologie, onder dezelfde testvoorwaarden, andere kritische diameters aanraadt<sup>2</sup>. Stammen met een diameter kleiner 25 mm zijn resistent tegen cefoxitine. Stammen met een diameter groter dan of gelijk aan 27 mm zijn

gevoelig. Een bevestiging, zeker voor de stammen met een diameter die tussen deze beide grenzen ligt, kan gebeuren via de bepaling van het PBP2a via een latex-agglutinatie-test of van het *mecA* gen via PCR<sup>1</sup>.

Wat betreft de andere antibiotica, hebben nagenoeg alle laboratoria (> 99%) correct de gevoeligheid voor vancomycine en gentamicine geantwoord. Eén laboratorium rapporteerde resistentie tegen vancomycine (zeer ernstige fout). Alle laboratoria, op één na, hebben de resistentie tegen de chinolonen aangetoond.

De stam vertoont een klassiek resistentiepatroon. Resistentie tegen chinolonen komt frequent voor bij *S. aureus*. Meer dan 95% van de oxacilline-resistente stammen (« methicillin resistant *S. aureus*»; MRSA) vertonen inderdaad een co-resistentie tegen ciprofloxacine. Het percentage van chinolone-resistentie bij stammen die gevoelig zijn voor oxacilline (« methicillin susceptible *S. aureus*»; MSSA) varieert van 8 tot 20% naargelang de studies. Sinds 2005, is de gentamicine-resistentie zeldzaam geworden (<1%) zowel bij MRSA als MSSA. Resistentie tegen glycopeptides, en meer bepaald tegen vancomycine, is uitzonderlijk (<1%) en moet bevestigd worden in een referentiecentrum.

In België, nam de prevalentie van MRSA in de ziekenhuizen toe gedurende de jaren 1980, om vervolgens vanaf 1994 af te nemen ten gevolge van de toepassing van de nationale aanbevelingen voor de controle van de verspreiding van MRSA (Béa Jans et Marc J. Struelens, NSIH data beschikbaar op [http://www.iph.fgov.be/nsih/home/home\\_nl.asp](http://www.iph.fgov.be/nsih/home/home_nl.asp)). Vanaf 1999 tot 2004, toonden de gegevens van de surveillance in de ziekenhuizen een nieuwe toename van de incidentie aan, gevolgd door een snelle daling na een verstrakking van de screenings- en controle-maatregelen. Deze evolutie van de prevalentie ging gepaard met belangrijke wijzigingen in de MRSA klonen die in de ziekenhuizen circuleren waarbij de gentamicine-resistente stammen verdwenen<sup>4</sup>. In 2005, toonde een nationale prevalentiestudie, die gevoerd werd in samenwerking met het WIV, een hoge mate van kolonisatie aan bij de bewoners van 60 rust- en verzorgingstehuizen<sup>7</sup>. Via moleculaire typering werd aangetoond dat de stammen die in deze studie aangetroffen werden, behoorden tot de klonen die sterk verspreid zijn in de Belgische hospitalen<sup>5</sup>.

Gelijktijdig met deze verspreiding in de sector van de ziekenhuizen en de rust- en verzorgingstehuizen, worden sinds een tiental jaren in Australië, in de Verenigde Staten en in Europa, MRSA gerapporteerd bij jonge patiënten die geen contact hebben met verzorgingsinstellingen<sup>11</sup>. Deze Community-acquired methicillin-resistant *S. aureus* (CA-MRSA) zijn vaak geassocieerd met infecties van de huid en weke weefsels, en zeldzamer, met osteo-arthritis of ernstige necrotiserende pneumonieën. Deze hypervirulente stammen produceren vaak een exotoxine, het Panton-Valentine leucocidine (PVL) dat een ernstige weefselnecrose veroorzaakt met lyse van de witte bloedcellen.

Dit toxine wordt slechts zelden geïsoleerd bij *S. aureus* (<2%) met uitzondering van de CA-MRSA stammen<sup>3,4</sup>. De meerderheid van de PVL positieve CA-MRSA behoren tot epidemische klonen die verschillen van deze die in onze ziekenhuizen voorkomen<sup>3</sup>.

In 2005, werd een abnormale prevalentie van MRSA vastgesteld in Europa bij personen die in contact komen met fokdieren (voornamelijk varkens), zoals landbouwers en veeartsen. Deze MRSA-stammen zijn van een genetisch verschillende oorsprong dan de hiervoor beschreven humane stammen<sup>6,12</sup>. Deze kloon wordt slechts zelden beschreven bij de mens, behalve bij personen die in contact komen met fokvee als varkens en kalveren. De surveillance-gegevens van het referentiecentrum tonen aan dat deze stammen sporadisch geïsoleerd worden in onze ziekenhuizen.

Het antibiogram laat geen formele differentiatie toe van de oorsprong van de stammen (nosocomiaal, community-acquired of van dierlijke oorsprong). Desalniettemin, moeten we opmerken dat de meerderheid van de MRSA van nosocomiale oorsprong resistent zijn tegen ciprofloxacine (95%); het resistentieprofiel tegen andere antibiotica varieert. De CA-MRSA en de stammen van dierlijke oorsprong zijn gevoeliger aan de chinolonen (40 - 90%). De PVL positieve stammen zijn vaak resistent tegen fusidinezuur (60%), kanamycine (96%) en de tetracyclines (74%); de stammen van dierlijke oorsprong zijn resistent tegen tetracyclines (100%) en ook vaak tegen gentamicine (44%), tobramycine (52%) en erythromycine (54%).

Sinds 2008, organiseert het referentielaboratorium een actieve surveillance van de community-acquired MRSA-infecties en van de MRSA-infecties van dierlijke oorsprong. Er wordt aan de laboratoria gevraagd alle MRSA aan te geven die vastgesteld worden bij patiënten die sinds minder dan 48 uur opgenomen zijn, en die het voorgaande jaar niet opgenomen waren in een hospitaal of rusthuis. De aanvraagformulieren kunnen gedownload worden van de website van het referentielaboratorium op het volgende adres: [www.mrsa.be](http://www.mrsa.be).

De bevestiging van de oxacilline-resistentie, het opsporen van toxines en de typering kunnen aangevraagd worden bij het Referentielaboratorium voor Stafylokokken - MRSA.

Olivier Denis, Ariane Deplano et Marc J Struelens. Laboratoire de Référence des Stafylocoques et des MRSA

## REFERENTIES

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 18th informational supplement M100-S18. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
2. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. 2008. Communiqué 2008. <http://www.sfm.asso.fr>.
3. Denis, O., A. Deplano, H. De Beenhouwer, M. Hallin, G. Huysmans, M. G. Garrino, Y. Glupczynski, X. Malaviolle, A. Vergison, and M. J. Struelens. 2005. Polyclonal emergence and importation of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains harbouring Panton-Valentine leucocidin genes in Belgium. *J Antimicrob. Chemother.* 56:1103-1106
4. Denis, O., A. Deplano, C. Nonhoff, M. Hallin, R. De Ryck, R. Vanhoof, R. de Mendonca, and M. J. Struelens. 2006. In vitro activities of ceftobiprole, tigecycline, daptomycin, and 19 other antimicrobials against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from a national survey of Belgian hospitals. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50:2680-2685.
5. Denis, O., B. Jans, R. De Ryck, A. Deplano, C. Nonhoff, M. F. Gasasira, C. Suetens, and M. J. Struelens. Molecular epidemiology of MRSA strains from residents of Belgian nursing homes during a national survey in 2005. 146th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 27-30 September 2006, San Francisco, USA.
6. Denis, O., C. Suetens, M. Hallin, I. Ramboer, B. Catry, B. Gordts, P. Butaye, and M. J. Struelens. High prevalence of "livestock-associated" methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in swine and pig farmers in Belgium. 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 19-22 April 2008, Barcelona, Spain.
7. Jans, B., C. Suetens, O. Denis, and M. J. Struelens. The first national methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* prevalence study in Belgian nursing homes indicates high carriage rates among residents. 16th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 1-4 April 2006, Nice, France
8. Maes, N., J. Magdalena, S. Rottiers, Y. De Gheldre, and M. J. Struelens. 2002. Evaluation of a triplex polymerase chain reaction (PCR) assay to discriminate *Staphylococcus aureus* from coagulase negative staphylococci (CoNS) and determine methicillin resistance from blood cultures. *J. Clin. Microbiol.* 40:1514-

9. Nonhoff, C., Mascart, G., Struelens, M. J., Van Den Borre, C., and Denis, O. Detection of hetero-resistant MRSA: Controlled comparison of oxacillin/cefoxitin susceptibility testing by disk diffusion, agar screen, Vitek-2 and BD Phoenix automated systems. 14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 1-4 May 2004, Prague, Czech Republic.1517.
10. Roisin, S., C. Nonhoff, O. Denis, and M. J. Struelens. 2008. Evaluation of new Vitek 2 card and disk diffusion method for determining susceptibility of *Staphylococcus aureus* to oxacillin. *J Clin.Microbiol.* 46:2525-2528.
11. Tristan, A., M. Bes, H. Meugnier, G. Lina, B. Bozdogan, P. Courvalin, M. E. Reverdy, M. C. Enright, F. Vandenesch, and J. Etienne. 2007. Global distribution of Panton-Valentine leukocidin--positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, 2006. *Emerg.Infect.Dis.* 13:594-600.
12. Voss, A., F. Loeffen, J. Bakker, C. Klaassen, and M. Wulf. 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerg.Infect.Dis.* 11:1965-1966

**2.5 Addendum: *E. coli* M/8519**, verstuurd in de enquête 2008/2 naar de laboratoria met onpaar erkenningsnummer.

De firma bioMérieux heeft ons de resultaten bezorgd van het onderzoek dat zij op deze kiem (die met hun identificatietechnieken het resultaat "*Salmonella*" opleverde) verricht hebben.

U vindt hieronder de conclusie:

Identification comment :

Reference method - 16S RNA sequencing : *Escherichia coli* (98,9%).

Identification has been confirmed on ID 32E strip

We duplicated the customer results.

- on GN card , lot #241075740/VT2 version 4.03 and 3,1 : misidentification to the species *Salmonella choleraesuis ssp arizonae* (tests against *E.coli*:H<sub>2</sub>S<sup>+</sup>, ELLM -)
- on API 20E: atypical profile leading a low discrimination with *Escherichia coli* (H<sub>2</sub>S<sup>+</sup>,IND -) and *Salmonella choleraesuis ssp arizonae*.

**CONCLUSION:**

We observed an atypical biochemical profile (H<sub>2</sub>S<sup>+</sup>, IND-or ELLM -) for this bacteria, leading a misidentification to the species *Salmonella enterica ssp arizonae* on VT2. This atypical profile has been confirmed on API 20E (H<sub>2</sub>S<sup>+</sup>, IND-) leading a low discrimination (no misidentification in this case).

These data and organism will be considered for future use in the Knowledge Base.

### III. RESULTATEN VAN DE IDENTIFICATIES (N = 176)

178 laboratoria hebben een antwoord ingestuurd. Naast 176 Belgische en Luxemburgse waren dit een buitenlands en een firmalaboratorium. Deze laatste 2 werden niet in de verwerking der resultaten opgenomen. De correcte of aanvaardbare resultaten zijn onderlijnd.

#### 3.1. Cultuur M/5375 *Clostridium perfringens* (wonde)

<u><i>Clostridium perfringens</i></u>	169	(96.0%)
<u><i>Clostridium species</i></u>	2	(1.1%)
<i>Clostridium clostridioforme</i>	1	
<u>Anaërobe gram positieve staafjes (in routine doorgestuurd voor verdere identificatie)</u>	1	(0.6%)
<u>Aërobe kweek negatief; anaërobe kweek extern labo in onderaanneming</u>	1	(0.6%)
Salmonella enterica ssp arizonae	1	
Geen groei	1	

#### 3.2. Cultuur M/6085 *Moraxella catarrhalis* (sputum)

<u><i>Moraxella catarrhalis</i></u>	128	(72,7%)
<u><i>Branhamella catarrhalis</i></u>	31	(17,6%)
<u><i>Moraxella (Branhamella) catarrhalis</i></u>	16	(9,1%)
<i>Moraxella species</i>	1	

NB 5 laboratoria vermelden dat de stam  $\beta$ -lactamase positief is en 1 dat ze cefinase positief is.

### 3.3. Cultuur M/7314 *Streptococcus mitis/oralis* (hemocultuur)

<u><i>Streptococcus oralis</i></u>	46 (26.1%)
<u><i>Streptococcus oralis</i> (mitis groep)</u>	1 (0.6%)
<u><i>Streptococcus oralis</i> (mitis)- mitior</u>	1 (0.6%)
<u><i>Streptococcus mitis</i></u>	39 (22.2%)
<u><i>Streptococcus mitis</i> groep</u>	10 (5.7%)
<u><i>Streptococcus mitis</i> groep (oralis/sanguis)</u>	2 (1.1%)
<u><i>Streptococcus mitis</i> (viridans)</u>	2 (1.1%)
<u><i>Streptococcus mitis</i> (ex oralis)</u>	1 (0.6%)
<u><i>Streptococcus mitis/oralis</i></u>	39 (22.2%)
<u><i>Streptococcus mitis/oralis</i> groep</u>	1 (0.6%)
<u><i>Streptococcus mitis/oralis</i> (viridans)</u>	2 (1.1%)
<u><i>Streptococcus viridans</i></u>	13 (7.4%)
<u><i>Streptococcus viridans</i> groep</u>	1 (0.6%)
<u><i>Streptococcus viridans</i> (mitis groep)</u>	2 (1.1%)
<u><i>Streptococcus viridans</i> (mitis)</u>	1 (0.6%)
<u><i>Streptococcus viridans</i> (mitis/oralis groep)</u>	1 (0.6%)
<u><i>Streptococcus viridans</i> (mitis/oralis)</u>	1 (0.6%)
<u><i>Streptococcus viridans</i> (mutans groep)</u>	1 (0.6%)
<u><i>Streptococcus viridans</i> (anginosus groep)</u>	1 (0.6%)
<u>Alpha-hemolytische streptokok (78% <i>S. mitis</i>)</u>	1 (0.6%)
<u><i>Streptococcus species</i></u>	3 (1.7%)
<i>Streptococcus bovis</i>	1
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	1
<i>Streptococcus salivarius</i>	1
<i>Gemella morbillorum</i>	1
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1
Extern labo in onderaanneming	1
Geen antwoord	1



**3.4. Cultuur M/4088 *Staphylococcus aureus* (hemocultuur)**

<u><i>Staphylococcus aureus</i></u>	173	(98.3%)
<i>Streptococcus oralis</i>	1	
Extern labo in onderaanneming	1	
Geen antwoord	1	

NB 95 laboratoria vermelden dat het een MRSA betreft.

## 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/7314 (*Streptococcus mitis*)

Aantal deelnemers = 172

(De beide laboratoria die geen identificatie uitvoerden op dit staal, antwoordden uiteraard ook geen antibiogram; ook 2 andere laboratoria, die wel een identificatie uitvoerden, lieten het antibiogram open).

Niet alle deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor alle antibiotica. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor meer dan één aminoglycoside. 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 resultaat van de MIC bepaling weer te geven.

Eén laboratorium vermeldde dat voor deze kiem geen officiële criteria bekend zijn en het antibiogram afgelezen werd volgens de breekpunten en kritische diameters toepasselijk voor viridans streptokokken.

Tabel 4.1.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/7314 (*S. mitis*)

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	I/R	R	*
Penicilline	R	165	2	27	-	126 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>
Ceftriaxone	R	97	18	29 <sup>3</sup>	1	45	4 <sup>4</sup>
Cefotaxime <sup>5</sup>	R	35	4	8	1	22 <sup>6</sup>	
Vancomycine	S	166	164	-	-	-	2 <sup>7</sup>
Aminoglycosiden	Cfr. commentaar hoofdstuk 2.3.						
Amikacine		25	-	-	-	23	2 <sup>8</sup>
Gentamicine		59	20 <sup>9</sup>	2	-	17 <sup>10</sup>	20 <sup>11</sup>
Netilmicine		2	1	1 <sup>12</sup>	-	-	1
Tobramycine		3	-	-	-	2	1 <sup>13</sup>
"Aminoglycoside" <sup>14</sup>		13	3	-	-	-	10 <sup>15</sup>

<sup>1</sup> Een aantal laboratoria voorzag hun antwoord "R" van een opmerking.

Eén laboratorium voorzag zijn antwoord van de opmerking: "Oxacilline 1 µg gaf diameter 9 mm→penicilline R. De stam dient doorgestuurd voor MIC-bepaling (stammen uit bloed of CSF dienen te worden geantwoord aan de hand van MIC-bepaling)". Een tweede laboratorium vermeldde eveneens dat in routine de stam zou doorgestuurd worden voor confirmatie van de resistentie. Een derde laboratorium vermeldde zich mede gebaseerd te hebben op het resultaat van de oxacilline 10-schijf.

- 2 Acht laboratoria vermeldden dat een MIC-bepaling noodzakelijk is voor penicilline maar dat ze deze niet zelf uitvoeren en in routine bijgevolg de stam hiervoor doorsturen. Eén laboratorium stuurt dergelijke stammen door voor gevoeligheidsbepaling van alle antibiotica. Eén laboratorium antwoordde het kwantitatieve resultaat van de MIC-bepaling (4 mg/l) maar niet de kwalitatieve interpretatie hiervan.
- 3 Eén laboratorium vermeldde dat in routine de stam zou doorgestuurd worden voor confirmatie van het resultaat "I".
- 4 Twee laboratoria vermeldden dat ze in routine de stam zouden doorsturen voor een MIC-bepaling. Eén laboratorium stuurt dergelijke stammen door voor gevoeligheidsbepaling van alle antibiotica. Eén laboratorium antwoordde het kwantitatieve resultaat van de MIC-bepaling (3 mg/l) maar niet de kwalitatieve interpretatie hiervan.
- 5 Een aantal laboratoria hebben de gevoeligheid voor cefotaxime in plaats van voor ceftriaxone bepaald.
- 6 Eén laboratorium vermeldde dat in routine de stam zou doorgestuurd worden voor confirmatie van de resistentie.
- 7 Eén laboratorium stuurt dergelijke stammen door voor gevoeligheidsbepaling van alle antibiotica. Eén laboratorium antwoordde het kwantitatieve resultaat van de MIC-bepaling (1.5 mg/l) maar niet de kwalitatieve interpretatie hiervan.
- 8 Twee laboratoria antwoordden wel de gemeten diameter maar vermeldden dat er geen criteria bestaan voor de interpretatie.
- 9 Eén van deze laboratoria vermeldde dat het de interpretatiecriteria voor enterokokken voor high level gentamicine gebruikt heeft; een ander laboratorium vermeldde dat er geen richtlijnen bestaan.
- 10 Eén laboratorium antwoordde "R" voor gentamicine maar vermeldde wel het bestaan van een synergie penicilline-gentamicine.
- 11 Zeven laboratoria vermeldden het bestaan van een synergie penicilline-gentamicine. Acht laboratoria vermeldden dat er geen richtlijnen bestaan. Twee laboratoria bepaalden high en low level gentamicine gevoeligheid: één van beide gaf geen interpretatie, het andere bekwam verschillende resultaten voor low ("R") en high ("S") level. Eén laboratorium vermeldde dat er geen high level resistentie bekend is. Eén laboratorium vermeldde dat gentamicine in routine niet getest wordt doch dat ingeval van endocarditis de clinicus dit toevoegt en dat gentamicine dan getest wordt om de high level resistentie te bepalen. Een laatste laboratorium vermeldde dat gezien het hoge resistentie niveau tegen penicilline, er verlies is van de synergie tussen penicilline en gentamicine.
- 12 Eén laboratorium gaf de opmerking: "aminoglycoside wordt "in vivo" gebruikt voor synergie-effect".
- 13 Eén laboratorium vermeldde het bestaan van een low level resistentie tegen tobramycine maar dat in dit geval een high level gevoeligheid voor aminoglycosiden bepaald zou moeten worden.
- 14 Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte aminoglycoside niet.
- 15 Eén laboratorium vermeldde het bestaan van een synergie penicilline-gentamicine of glycopeptide-gentamicine. Twee laboratoria vermeldden dat een MIC-bepaling noodzakelijk is voor aminoglycosiden en drie dat een bepaling van high level resistentie noodzakelijk is maar dat ze deze niet zelf uitvoeren en in routine bijgevolg de stam hiervoor doorsturen. Eén laboratorium stuurt dergelijke stammen door voor gevoeligheidsbepaling van alle antibiotica. Eén laboratorium vermeldde high level resistentie enkel voor enterokokken te bepalen. Eén laboratorium vermeldde dat er geen high level resistentie bekend is. Een laatste laboratorium vermeldde de aanwezigheid van low level resistentie.

Het in de tabellen 4.1.2. tot en met 4.1.10 weergegeven resultaat is het finale resultaat, na eventuele wijziging via toepassing der expert-regels.

Niet alle deelnemers vermeldden de gebruikte methode of lading. Voor zover deze aangegeven werd door de deelnemers, hebben wij voor de

schijfjesmethode met de papieren schijfjes of Neosensitabs schijfjes mediaan, minimum en maximum diameter bepaald. Sommige deelnemers vermeldden een andere lading dan de aangewezen lading of vermeldden de lading niet; deze laboratoria werden niet in de berekening der medianen, minimum en maximum opgenomen. Er dient opgemerkt dat één laboratorium bij groei tot tegen het (papieren) schijfje een diameter gelijk aan "nul" rapporteerde. Nochtans is het aangewezen dat in dergelijke gevallen geen "nul" geantwoord wordt, doch de diameter van het schijfje gerapporteerd wordt. Deze resultaten werden evenmin in aanmerking genomen in de hiernavolgende tabellen.

De resultaten van de laboratoria die de Osiris gebruikt hebben om de diameters van de papieren schijfjes af te lezen vindt u in tabel 4.1.9.

Tabel 4.1.2. Bekomen diameters met de papieren schijfjes volgens CLSI voor staal M/7314 (*S. mitis*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g}$ /schijfje of U/schijfje igv penicilline)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Penicilline	12 (13)	10	15	6 - 20	-	-	9	4 <sup>1</sup>
Ceftriaxone	13 (13)	30	22	17 - 28	1	1	9	2 <sup>2</sup>
Cefotaxime	9 (9)	30	23	13 - 32	1	2 <sup>3</sup>	6 <sup>4</sup>	-
Vancomycine	29 (32)	30	21	16 - 30	32	-	-	-
Aminoglycosiden								
Amikacine	5 (5)	30	6	6 - 8	-	-	5	-
Gentamicine	6 (6)	10	9	6 - 18	-	-	5	1 <sup>5</sup>
	5 (5)	250	20	16 - 23	4 <sup>6</sup>	-	-	1 <sup>7</sup>
	(2)	<sup>8</sup>	-	-	-	-	-	2 <sup>8</sup>
Tobramycine	1 (2)	10	6	6 - 6	-	-	2	-

<sup>1</sup> Twee laboratoria verwezen voor de kwalitatieve interpretatie naar de eigen MIC-bepaling; een derde laboratorium vermeldde dat MIC-bepaling noodzakelijk is maar dat het de stammen doorstuurt voor deze bepaling. Een vierde antwoordde "niet gevoelig" en verwees naar de eigen MIC-bepaling.

<sup>2</sup> Twee laboratoria verwezen voor de kwalitatieve interpretatie naar de eigen MIC-bepaling.

<sup>3</sup> Eén laboratorium bewam een ruw resultaat "S" maar antwoordde als finaal resultaat "I" op basis van de extrapolatie van het resultaat van de MICE bepaling (3 mg/l).

<sup>4</sup> Eén laboratorium vermeldde dat in routine de stam zou doorgestuurd worden voor confirmatie van de resistentie.

<sup>5</sup> Eén laboratorium vermeldde dat er geen richtlijnen bestaan.

<sup>6</sup> Eén laboratorium vermeldde de interpretatiecriteria voor high level gevoeligheidsbepaling voor enterokokken gebruikt te hebben.

<sup>7</sup> Eén laboratorium vermeldde dat er geen richtlijnen bestaan.

<sup>8</sup> Eén laboratorium vermeldde een lading van "500" maar dat er geen richtlijnen bestaan. Een ander laboratorium bepaalde high en low level gentamicine gevoeligheid en bewam verschillende resultaten voor low ("R") en high ("S") level.

Zoals in voorgaande rapporten vermeldden wij voor de Neosensitabs schijfjes de schijfjes met Neosensitabs ladingen ("old") en met CLSI ladingen ("new") afzonderlijk. U vindt de resultaten in tabellen 4.1.3. a en b. De resultaten van de laboratoria die de Sirscan gebruikt hebben om de diameters van deze schijfjes af te lezen vindt u in tabel 4.1.10.

Tabel 4.1.3.a. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (Neosensitabs ladingen) voor staal M/7314 (*S. mitis*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g}$ /schijfje of U/schijfje igv penicilline)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Penicilline <sup>1</sup>	46 (57)	5	13	9 - 20	1	9	45 <sup>2</sup>	2 <sup>3</sup>
Ceftriaxone	36 (38)	30	24	12 - 30	12	8 <sup>4</sup>	17	1 <sup>5</sup>
Cefotaxime	6 (6)	30	26.5	20 - 31	1	1	4	-
Vancomycine	58 (70)	5	21	18 - 31	70	-	-	-
Aminoglycosiden								
Amikacine <sup>6</sup>	10 (16)	40	11	9 - 14	-	-	15	1 <sup>7</sup>
Gentamicine	15 (15)	10	18	6 - 24	2	1	8	2 <sup>8</sup>
	9 (10)	250	27	17 - 30	9 <sup>9</sup>	-	-	1 <sup>10</sup>
	(2)	11	-	-	1 <sup>11</sup>	-	-	1 <sup>11</sup>
Netilmicine	1 (2)	40	17	17 - 17	1 <sup>12</sup>	1	-	-
Aminoglycoside	1 (1)	250	26	26 - 26	1	-	-	-

- <sup>1</sup> Tevens antwoordde één laboratorium een diameter <8 mm en één laboratorium een diameter van 0.9 mm.
- <sup>2</sup> Eén laboratorium vermeldde zich mede gebaseerd te hebben op het resultaat van de oxacilline 10-schijf.
- <sup>3</sup> Eén laboratorium verwees voor de kwalitatieve interpretatie naar de eigen MIC-bepaling; een ander laboratorium vermeldde dat MIC-bepaling noodzakelijk is maar dat het de stammen doorstuurt voor deze bepaling.
- <sup>4</sup> Eén laboratorium vermeldde dat in routine de stam zou doorgestuurd worden voor confirmatie van het resultaat "I".
- <sup>5</sup> Eén laboratorium verwees voor de kwalitatieve interpretatie naar de eigen MIC-bepaling.
- <sup>6</sup> Tevens antwoordde één laboratorium een diameter <8 mm en één laboratorium een diameter van 1 mm.
- <sup>7</sup> Eén laboratorium vermeldde dat er geen richtlijnen bestaan.
- <sup>8</sup> Twee laboratoria vermeldden dat er geen richtlijnen bestaan.
- <sup>9</sup> Eén laboratorium vermeldde dat er weliswaar geen richtlijnen bestaan.
- <sup>10</sup> Eén laboratorium vermeldde het bestaan van een synergie penicilline-gentamicine.
- <sup>11</sup> Twee laboratoria bepaalden high en low level gentamicine gevoeligheid; één van beide bekwam zowel voor low als voor high level een resultaat "R"; het 2<sup>e</sup> liet de kwalitatieve interpretatie open.
- <sup>12</sup> Eén laboratorium gaf de opmerking: "aminoglycoside wordt "in vivo" gebruikt voor synergie-effect".

Tabel 4.1.3.b. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (CLSI ladingen) voor staal M/7314 (*S. mitis*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g}$ /schijfje of U/schijfje igv penicilline)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Penicilline	8 (8)	10	15	10 - 21	-	4	3 <sup>1</sup>	1 <sup>2</sup>
Ceftriaxone	3 (3)	30	25	20 - 31	2	1	-	-
Cefotaxime	2 (2)	30	25.5	23 - 28	-	1	-	1 <sup>3</sup>
Vancomycine	7 (7)	30	21	18 - 27	7	-	-	-
Aminoglycosiden								
Amikacine	1 (1)	30	9	9 - 9	-	-	1	-
Gentamicine	1 (1)	10	9	9 - 9	-	-	1	-
Tobramycine	1 (1)	10	9	9 - 9	-	-	-	1 <sup>4</sup>
Aminoglycoside	2 (2)	250	22	22 - 22	2	-	-	-

<sup>1</sup> Eén laboratorium vermeldde zich mede gebaseerd te hebben op het resultaat van de oxacilline-schijf van 1  $\mu\text{g}$  (diameter 9 mm.).

<sup>2</sup> Eén laboratorium verwees voor de kwalitatieve interpretatie naar de eigen MIC-bepaling.

<sup>3</sup> Eén laboratorium verwees voor de kwalitatieve interpretatie naar de eigen MIC-bepaling.

<sup>4</sup> Eén laboratorium vermeldde het bestaan van een low level resistentie tegen tobramycine maar dat in dit geval een high level gevoeligheid voor aminoglycosiden bepaald zou moeten worden.

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

Tabel 4.1.4. Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor staal M/7314 (*S. mitis*).

	N res.	*	MIC (mg/l)											Resultaat					
			< 0.5	0,5	1	1.5	2	3	4	8	12	16	24	≥ 32	S	I	I/R	R	*
				-	-	-	-	-	-	-	-	-	-						
				1	1.5	2	3	4	8	12	16	24	32						
Penicilline <sup>1</sup>	64					2	8	7	21	11	2	3	3	6	-	8	-	55	1 <sup>2</sup>
Ceftriaxone	32	1			1	5	10	8	4	2	1				2	16	1	12	1 <sup>3</sup>
Cefotaxime	15				1		2	4	6	1		1			1	3	-	11	-
Vancomycine	18		1	4	11	1	1								18	-	-	-	-
Aminoglycosiden																			
Gentamicine	3								1	1	1				1	1	-	-	1 <sup>4</sup>
Aminoglycoside	1													1	-	-	-	-	1 <sup>5</sup>

\* MIC-waarde niet vermeld

<sup>1</sup> Tevens antwoordde één laboratorium een MIC-waarde > 4 mg/l.

<sup>2</sup> Eén laboratorium antwoordde het kwantitatieve resultaat van de MIC-bepaling (4 mg/l) maar niet de kwalitatieve interpretatie hiervan.

<sup>3</sup> Eén laboratorium antwoordde het kwantitatieve resultaat van de MIC-bepaling (3 mg/l) maar niet de kwalitatieve interpretatie hiervan.

<sup>4</sup> Eén laboratorium vermeldde dat gezien het hoge resistentie niveau tegen penicilline, er verlies is van de synergie tussen penicilline en gentamicine.

<sup>5</sup> Eén laboratorium vermeldde het bestaan van een synergie penicilline-gentamicine of glycopeptide-gentamicine.



De resultaten die met de MICE-test bekomen werden, zijn samengevat in onderstaande tabel 4.1.5.

Tabel 4.1.5. Resultaten bekomen MIC-waarden met de MICE-test voor staal M/7314 (*S. mitis*).

	N res.	MIC (mg/l)												Resultaat				
		0,25	0,5	1	1,5	2	4	6	8	12	16	32	≥ 48	S	I	I/R	R	*
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
		0,5	1	1,5	2	4	6	8	16	16	32	48						
Penicilline <sup>1</sup>	11					1	4	1	3	1				-	2	-	9	-
Ceftriaxone	2			1			1							-	1	-	1	-
Cefotaxime	3			1		1	1							-	1	1	1	-
Vancomycine	6	4	1		1									5	-	-	-	1 <sup>2</sup>
Aminoglycosiden																		
Gentamicine	2												1	1	-	-	-	2 <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Tevens antwoordde één laboratorium een MIC-waarde > 4 mg/l.

<sup>2</sup> Eén laboratorium antwoordde het kwantitatieve resultaat van de MIC-bepaling (1,5 mg/l) maar niet de kwalitatieve interpretatie hiervan.

<sup>3</sup> Twee laboratoria vermeldden het bestaan van een synergie penicilline-gentamicine.

De resultaten bekomen met de Vitek worden weergegeven in tabel 4.1.6.

Tabel 4.1.6. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/7314 (*S. mitis*).

Antibioticum	Vitek 2						Vitek 2 compact					
	Finaal resultaat				Meest vermelde MIC waarde (mg/l)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Finaal resultaat				Meest vermelde MIC waarde (mg/l)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R	*			S	I	R	*		
Penicilline	-	3	7	-	≥ 2	5 (10)	1	-	1	-	4 en 8	1 en 1 (2)
Ceftriaxone	-	1	2	-	≥ 4	2 (3)	-	-	-	-	-	-
Cefotaxime	-	1	1	-	≥ 4	1 (2)	-	-	-	-	-	-
Vancomycine	8	-	-	-	≤ 1	6 (8)	2	-	-	-	≤ 1	2
Aminoglycosiden												
Gentamicine	2	1	1 <sup>1</sup>	1 <sup>2</sup>	-	- (4)	-	-	-	1 <sup>3</sup>	-	- (1)

<sup>1</sup> Eén laboratorium antwoordde "R" voor gentamicine maar vermeldde wel het bestaan van een synergie penicilline-gentamicine.

<sup>2</sup> Eén laboratorium vermeldde het bestaan van een synergie penicilline-gentamicine.

<sup>3</sup> Eén laboratorium vermeldde het bestaan van een synergie penicilline-gentamicine.

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

- voor penicilline vond 1 laboratorium een MIC van 1 mg/l en een ander een MIC van 8 mg/l met Vitek 2
- voor ceftriaxone vond 1 laboratorium een MIC van 2 mg/l met Vitek 2

De resultaten bekomen met de ATB methode worden weergegeven in tabel 4.1.7.

Tabel 4.1.7. Resultaten bekomen met de ATB methode voor staal M/7314 (*S. mitis*).

Antibioticum	Resultaat			
	S	I	R	*
Penicilline	-	3	12	-
Ceftriaxone	-	-	3	-
Cefotaxime	-	1	4	-
Vancomycine	18	-	-	-
Aminoglycosiden				
Gentamicine	-	-	-	1 <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Eén laboratorium vermeldde het bestaan van een synergie penicilline-gentamicine.

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.1.8.

Tabel 4.1.8. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/7314 (*S. mitis*).

Antibioticum	Resultaat				Meest vermelde MIC waarde	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R	*		
Penicilline	-	-	4	-	8	2 (4)
Ceftriaxone	-	1	1	-	2 en 4	1 en 1 (2)
Cefotaxime	1	-	1	-	3 en 4	1 en 1 (2)
Vancomycine	5	-	-	-	≤ 0.5	4 (5)
Aminoglycosides						
Gentamicine	2	-	-	1 <sup>1</sup>	≤ 250	2 (3)

<sup>1</sup> Eén laboratorium vermeldde dat er geen high level resistentie is.

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

- voor penicilline vond 1 laboratorium een MIC van 4 mg/l en een ander een MIC van ≥ 32 mg/l
- voor vancomycine vond 1 laboratorium een MIC van 1.5 mg/l met Vitek 2
- voor ceftriaxone vond 1 laboratorium een MIC van 12 mg/l met Vitek 2

De resultaten bekomen met de toestellen Osiris en Sirscan worden weergegeven in tabel 4.1.9. en 4.1.10. Gezien de meeste 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. Voor de Sirscan met gebruik van schijfjes met CLSI ladingen, gaf slechts 1 laboratorium een antwoord met als resultaten resistentie tegen penicilline en gentamicine, intermediaire gevoeligheid voor cefotaxime en gevoeligheid voor vancomycine.

Tabel 4.1.9. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/7314 (*S. mitis*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g}$ /schijfje of U/schijfje igv penicilline)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Penicilline	1 (2)	10	14	14 - 14	-	-	2	-
Ceftriaxone	1 (2)	30	22	22 - 22	-	1	1	-
Vancomycine	3 (5)	30	20	19 - 20	5	-	-	-
Aminoglycosiden								
Amikacine	- (1)	-	-	-	-	-	1	-
Gentamicine	- (1)	-	-	-	-	-	-	1 <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Eén laboratorium vermeldde dat er geen richtlijnen bestaan.

Tabel 4.1.10. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (Neosensitabs ladingen) voor staal M/7314 (*S. mitis*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g}$ /schijfje of U/schijfje igv penicilline)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Penicilline	3 (5)	5	12	12 - 14	-	-	4	1 <sup>1</sup>
Ceftriaxone	- (2)	-	-	-	-	1	1	-
Vancomycine	2 (4)	5	22.5	20 - 25	4	-	-	-
Aminoglycosiden								
Amikacine	1 (2)	5	12	12 - 12	-	-	1	1 <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Eén laboratorium verwees voor de kwalitatieve interpretatie naar de eigen MIC-bepaling.

<sup>2</sup> Eén laboratorium vermeldde dat er geen richtlijnen bestaan.

Tot slot dient vermeld dat:

- zoals reeds aangehaald in de overzichtstabel 4.1.1. verschillende laboratoria deze stam zouden doorsturen naar een referentiecentrum voor de MIC-bepaling van 1 of meerdere antibiotica
- 1 laboratorium penicilline en ceftriaxone als intermediair gevoelig beschouwde op basis van de resultaten van de E-test voor ampicilline
- twee laboratoria niet vermeldden welke techniek zij gebruikt hebben ter bepaling van de gevoeligheid voor één of meer antibiotica

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

- Penicilline:
  - o S→R
    - Rosco Neosensitabs: 1 labo
  - o I→R
    - Rosco Neosensitabs: 6 labo's (waarvan 4 mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken en 1 verwijst naar het oxacilline 10 schijfje)
    - Rosco CLSI: 1 labo (het labo dat verwijst naar het oxacilline 1 µg schijfje)
    - E-test: 2 labo's
  - o I/R→R
    - Rosco Neosensitabs: 2 labo's (1 mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken)
    - E-test: 2 labo's
- Ceftriaxone:
  - o I→R
    - Rosco Neosensitabs: 1 labo
  - o I→I/R
    - E-test: 1 labo
- Cefotaxime
  - o S→I
    - Papieren schijfjes: 2 labo's (waarvan 1 mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken)

#### 4.2. Cultuur M/4088 (*Staphylococcus aureus*)

Aantal deelnemers = 174

(De beide laboratoria die geen identificatie uitvoerden op dit staal, antwoordden uiteraard ook 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 resultaat van de MIC bepaling weer te geven.

Opvallend is dat één laboratorium de gevoeligheid noch voor oxacilline, nog voor methicilline, nog voor cefoxitine bepaald heeft, hoewel het wel de correcte identificatie antwoordde.

Tabel 4.2.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/4088 (*Staphylococcus aureus*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Penicilline	R	168	-	-	168	-
Oxacilline	R	152	1	1	148	2 <sup>1</sup>
Methicilline	R	6			5	1 <sup>2</sup>
Cefoxitine	R	128		1	126	1 <sup>3</sup>
Gentamicine	S	163	163	-	-	-
Amikacine <sup>4</sup>	S	2	1	1	-	-
Vancomycine	S	172	171 <sup>5</sup>	-	1	-
Teicoplanine <sup>6</sup>	S	1	1	-	-	-
Chinolones						
Ciprofloxacin	R	101	1	-	100	-
Levofloxacin	R	39	-	-	39	-
Moxifloxacin	R	15	-	-	15	-
Norfloxacin	R	10	-	-	10	-
Ofloxacin	R	13	-	-	13	-
Pipemidinezuur	R	1	-	-	1	-
" Chinolone " <sup>7</sup>	R	11	-	-	11	-

<sup>1</sup> Eén laboratorium antwoordde het kwantitatieve resultaat van de MIC-bepaling (" $\geq 0.4\text{mg/l}$ ") maar niet de kwalitatieve interpretatie hiervan.

Een ander laboratorium gaf volgende opmerking: "In routine wordt de gevoeligheidsbepaling van cefoxitine (schijfje) systematisch in parallel uitgevoerd met de Vitek. Voor deze stam werd een grenswaarde S/R vast gesteld voor cefoxitine, wat discordant is met de resistentie die vast gesteld werd met de cefoxitin screen of oxacilline op Vitek en leidde tot het uitvoeren van supplementaire confirmatietesten. Wij hebben, zoals we ook in routine zouden doen, 2 E-tests uitgevoerd voor oxacilline op 35°C en op 30°C. Dit leverde onverwachte resultaten op. In praktijk zouden wij R antwoorden en de stam naar het referentiecentrum voor *S. aureus* sturen voor bijkomend onderzoek."

<sup>2</sup> Eén laboratorium gaf volgende opmerking: "Opsporen PBP-2 dmv latex-agglutinatietest = negatief. Opsporen mecA gen dmv PCR (genex X-pert- = negatief bij 0,005 McFarland; bij 0,5

McFarland positief signaal echter hoge CT (cycle treshold) waarde: 34,2. Besluit: methicilline resistente *S. aureus* volgens CLSI 2008"

- <sup>3</sup> Eén laboratorium gaf volgende opmerking: "In routine wordt de gevoeligheidsbepaling van cefoxitine (schijfje) systematisch in parallel uitgevoerd met de Vitek. Voor deze stam werd een grenswaarde S/R vast gesteld voor cefoxitine, wat discordant is met de resistentie die vast gesteld werd met de cefoxitin screen of oxacilline op Vitek en leidde tot het uitvoeren van supplementaire confirmatietesten. Wij hebben, zoals we ook in routine zouden doen, 2 E-tests uitgevoerd voor oxacilline op 35°C en op 30°C. Dit leverde onverwachte resultaten op. In praktijk zouden wij R antwoorden en de stam naar het referentiecentrum voor *S. aureus* sturen voor bijkomend onderzoek."
- <sup>4</sup> Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor amikacine in plaats van voor gentamicine.
- <sup>5</sup> Eén laboratorium gaf het resultaat van vancomycine onder voorbehoud, gezien beperking van de Vitek 2 methode voor deze kiemen: doorstuur naar referentielabo voor MIC bepaling
- <sup>6</sup> Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor teicoplanine en voor vancomycine.
- <sup>7</sup> Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

Het in de tabellen 4.2.2. tot en met 4.2.10. weergegeven resultaat is het finale resultaat, na eventuele wijziging via toepassing der expert-regels.

Niet alle deelnemers vermeldden de gebruikte methode of lading. Voor zover deze aangegeven werd door de deelnemers, hebben wij voor de schijfjesmethode met de papieren schijfjes of Neosensitabs schijfjes mediaan, minimum en maximum diameter bepaald. Sommige deelnemers vermeldden een andere lading dan de aangewezen lading of vermeldden de lading niet; deze laboratoria werden niet in de berekening der medianen, minimum en maximum opgenomen. Er dient opgemerkt dat twee laboratoria bij groei tot tegen het schijfje een diameter gelijk aan "nul" rapporteerden (één voor papieren schijfjes en één voor Neosensitabs schijfjes met Neosensitabs lading). Nochtans is het aangewezen dat in dergelijke gevallen geen "nul" geantwoord wordt, doch de diameter van het schijfje gerapporteerd wordt. Deze resultaten werden evenmin in aanmerking genomen in de hiernavolgende tabellen.

De resultaten van de laboratoria die de Osiris gebruikt hebben om de diameters van de papieren schijfjes af te lezen vindt u in tabel 4.1.9.



Tabel 4.2.2. Bekomen diameters met de papieren schijfjes volgens CLSI voor staal M/4088 (*Staphylococcus aureus*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g}$ /schijfje of U/schijfje igv penicilline)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Penicilline	15 (17)	10	6	6 - 10	-	-	17	-
Oxacilline	16 (18)	1	6	6 - 13	-	-	17	1 <sup>1</sup>
Cefoxitine	29 (31)	30	18	11 - 23	-	-	30	1 <sup>1</sup>
Gentamicine	19 (20)	10	22	17 - 30	20	-	-	-
Vancomycine	20 (21)	30	19	15 - 23	21	-	-	-
Chinolones								
Ciprofloxacin	11 (12)	5	6	6 - 7	-	-	12	-
Levofloxacin	3 (3)	5	6	6 - 7	-	-	3	-
Moxifloxacin	2 (2)	5	11	9 - 13	-	-	2	-
Ofloxacin	4 (4)	5	6	6 - 7	-	-	4	-
Pipemidinezuur	1 (1)	20	« 0 »		-	-	1	-

<sup>1</sup> Eén laboratorium gaf volgende opmerking: "In routine wordt de gevoeligheidsbepaling van cefoxitine (schijfje) systematisch in parallel uitgevoerd met de Vitek. Voor deze stam werd een grenswaarde S/R vast gesteld voor cefoxitine, wat discordant is met de resistentie die vast gesteld werd met de cefoxitin screen of oxacilline op Vitek en leidde tot het uitvoeren van supplementaire confirmatietesten. Wij hebben, zoals we ook in routine zouden doen, 2 E-tests uitgevoerd voor oxacilline op 35°C en op 30°C. Dit leverde onverwachte resultaten op. In praktijk zouden wij R antwoorden en de stam naar het referentiecentrum voor *S. aureus* sturen voor bijkomend onderzoek.

Zoals in voorgaande rapporten vermeldden wij voor de Neosensitabs schijfjes de schijfjes met Neosensitabs ladingen ("old") en met CLSI ladingen ("new") afzonderlijk. 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 tabel 4.2.10a en b.

Tabel 4.2.3.a. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (Neosensitabs ladingen) voor staal M/4088 (*Staphylococcus aureus*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g}$ /schijfje of U/schijfje igv penicilline)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline <sup>1</sup>	30 (37)	5	10	6 - 10	-	-	37
Oxacilline	24 (31)	1	11	9 - 17	1	1	29
Cefoxitine	21 (35)	60	22	13 - 27	-	1	34
Methicilline	1 (2)	29	20	20 - 20	-	-	2
Gentamicine	29 (31)	40	28	22 - 34	31	-	-
Amikacine	- (1)	-	-	-	-	1	-
Vancomycine	31 (38)	5	17	16 - 23	37	-	1
Teicoplanine	1 (1)	60	23	23 - 23	1	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	14 (21)	10	10	6 - 10	1	-	20
Levofloxacin <sup>2</sup>	7 (9)	5	9	9 - 10	-	-	9
Moxifloxacin	2 (2)	5	13	12 - 14	-	-	2
Norfloxacin	2 (2)	10	9.5	9 - 10	-	-	2
Ofloxacin	5 (5)	10	9	9 - 10	-	-	5
"Chinolone"	1 (1)	10	10	10 - 10	-	-	1

<sup>1</sup> Tevens antwoordde één laboratorium een diameter <8 mm.

<sup>2</sup> Tevens antwoordde één laboratorium een diameter <8 mm.

Tabel 4.2.3.b. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (CLSI ladingen) voor staal M/4088 (*Staphylococcus aureus*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g}$ /schijfje of U/schijfje igv penicilline)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline	4 (4)	10	9	9 - 9	-	-	4
Oxacilline	2 (2)	1	11	9 - 13	-	-	2
Cefoxitine	3 (3)	30	16	14 - 16	-	-	3
Gentamicine	3 (3)	10	24	21 - 28	3	-	-
Vancomycine	3 (3)	30	17	16 - 19	3	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	2 (2)	5	9	9 - 9	-	-	2
Levofloxacin	1 (1)	5	9	9 - 9	-	-	1
Ofloxacin	1 (1)	5	9	9 - 9	-	-	1

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/4088 (*Staphylococcus aureus*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/l)
Penicilline	1	1 x R	>32
Oxacilline <sup>1</sup>	4	3 x R	8 24 96
Cefoxitine	2	2 x R	24 32
Gentamicine	1	1 x S	0.19
Vancomycine	7	7 x S	1 x 1 mg/l; 5 x 2 mg/l; 1 x 3 mg/l
Ofloxacin	1	1 x R	>32

<sup>1</sup> Eén laboratorium is het laboratorium dat we reeds vroeger besproken hebben (cfr. de opmerking onder de tabel van papieren schijfjes). Het laboratorium bekwam voor de E-test op 35°C een MIC van 12 mg/l (resultaat "R") en op 30°C een MIC van 1.5 mg/l (resultaat "S").

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

Tabel 4.2.5. Resultaten bekomen MIC-waarden met de MICE-test voor staal M/4088 (*Staphylococcus aureus*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/l)
Penicilline	1	1 x R	>32
Gentamicine	1	1 x S	0.19
Vancomycine	3	3 x S	1 x 1 mg/l; 2 x 2 mg/l

De resultaten bekomen met de Vitek worden weergegeven in tabel 4.2.6.

Tabel 4.2.6. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/4088 (*Staphylococcus aureus*)

Antibioticum	Vitek 2					Vitek 2 compact					
	Finaal resultaat				Meest vermelde MIC waarde	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R	*			S	I	R		
Penicilline	-	-	62	-	≥ 0.5	54 (62)	-	-	29	≥ 0.5	27 (29)
Oxacilline	-	-	56 <sup>1</sup>	1 <sup>2</sup>	≥ 4	49 (58)	-	-	27	≥ 4	24 (27)
Cefoxitine	-	-	30 <sup>3</sup>	-	- <sup>4</sup>	- (30)	-	-	16	- <sup>4</sup>	- (16)
Gentamicine	62	-	-	-	≤ 0.5	54 (62)	29	-	-	≤ 0.5	27 (29)
Vancomycine	59 <sup>5</sup>	-	-	-	≤ 1	51 (59)	29	-	-	≤ 1	27 (29)
Chinolones											
Ciprofloxacin	-	-	40	-	≥ 8	37 (40)	-	-	16	≥ 8	14 (16)
Levofloxacin	-	-	16	-	≥ 8	15 (16)	-	-	7	≥ 8	6 (7)
Moxifloxacin	-	-	7	-	4	5 (7)	-	-	3	-	2 (3)
Norfloxacin	-	-	3	-	≥ 16	2 (3)	-	-	2	≥ 16	1 (2)
"Chinolone"	-	-	5	-	≥ 8	4 (5)	-	-	5	≥ 8	5 (5)

<sup>1</sup> Eén laboratorium gaf volgende opmerking: "In routine wordt de gevoeligheidsbepaling van cefoxitine (schijfje) systematisch in parallel uitgevoerd met de Vitek. Voor deze stam werd een grenswaarde S/R vast gesteld voor cefoxitine, wat discordant is met de resistentie die vast gesteld werd met de cefoxitin screen of oxacilline op Vitek en leidde tot het uitvoeren van supplementaire confirmatietesten. Wij hebben, zoals we ook in routine zouden doen, 2 E-tests uitgevoerd voor oxacilline op 35°C en op 30°C. Dit leverde onverwachte resultaten op. In praktijk zouden wij R antwoorden en de stam naar het referentiecentrum voor *S. aureus* sturen voor bijkomend onderzoek."

<sup>2</sup> Eén laboratorium antwoordde wel een kwantitatief resultaat ("≥ 0.4 mg/l") maar gaf geen kwalitatieve interpretatie.

<sup>3</sup> Eén laboratorium gaf volgende opmerking: "In routine wordt de gevoeligheidsbepaling van cefoxitine (schijfje) systematisch in parallel uitgevoerd met de Vitek. Voor deze stam werd een grenswaarde S/R vast gesteld voor cefoxitine, wat discordant is met de resistentie die vast gesteld werd met de cefoxitin screen of oxacilline op Vitek en leidde tot het uitvoeren van supplementaire confirmatietesten. Wij hebben, zoals we ook in routine zouden doen, 2 E-tests uitgevoerd voor oxacilline op 35°C en op 30°C. Dit leverde onverwachte resultaten op."

In praktijk zouden wij R antwoorden en de stam naar het referentiecentrum voor *S. aureus* sturen voor bijkomend onderzoek.”

- 4 De cefoxitine-screen test op Vitek 2 (compact) levert geen MIC-waarde maar wel het resultaat “positief” in geval van cefoxitine-resistentie.
- 5 Eén laboratorium gaf het resultaat van vancomycine onder voorbehoud, gezien beperking van de Vitek 2 methode voor deze kiemen: doorstuur naar referentielabo voor MIC bepaling

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

- voor penicilline vond 1 laboratorium een MIC > 5 mg/l met Vitek 2
- voor oxacilline vond 1 laboratorium een MIC van 1 mg/l en 1 laboratorium een MIC ≥ 0.4 mg/l met Vitek 2
- voor gentamicine vond 1 deelnemer een MIC van 1 mg/l met Vitek 2
- voor vancomycine vond 1 deelnemer een MIC ≤ 0.5 mg/l met Vitek 2
- voor moxifloxacin vond 1 deelnemer een MIC ≥ 8 mg/l met Vitek 2

De resultaten bekomen met de ATB methode worden weergegeven in tabel 4.2.7.

Tabel 4.2.7. Resultaten bekomen met de ATB methode voor staal M/4088 (*Staphylococcus aureus*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Penicilline	-	-	5
Oxacilline	-	-	4
Gentamicine	5	-	-
Vancomycine	5	-	-
Chinolones			
Levofloxacin	-	-	3
Norfloxacin	-	-	2

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.2.8.

Tabel 4.2.8. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/4088 (*Staphylococcus aureus*).

Antibioticum	Resultaat			Meest vermelde MIC waarde	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Penicilline	-	-	8	> 0.25	7 (8)
Oxacilline	-	-	8	> 2	7 (8)
Cefoxitine	-	-	8	> 8	7 (8)
Gentamicine	8	-	-	≤ 1	8 (8)
Vancomycine	8	-	-	≤ 1	8 (8)
Chinolones					
Ciprofloxacine	-	-	7	> 4	7 (7)

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

- voor penicilline vond 1 laboratorium een MIC > 1 mg/l
- voor oxacilline vond 1 laboratorium een MIC ≥ 4 mg/l

De resultaten bekomen met de toestellen Osiris en Sirscan worden weergegeven in tabel 4.2.9. en 4.2.10 a en b. Gezien de meeste 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 4.2.9. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/4088 (*Staphylococcus aureus*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g}$ /schijfje of U/schijfje igv penicilline)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline	4 (5)	10	9	9 - 9	-	-	5
Oxacilline	2 (3)	1	7.5	6 - 9	-	-	3
Cefoxitine	4 (5)	30	16	14 - 23	-	-	5
Gentamicine	3 (3)	10	27	22 - 27	3	-	-
Amikacine	1 (1)	30	17	17 - 17	1	-	-
Vancomycine	3 (3)	10	18	18 - 20	3	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	2 (3)	5	6	6 - 6	-	-	2
Levofloxacin	2 (2)	5	7	6 - 8	-	-	2
Norfloxacin	- (1)	10	-	-	-	-	1
Ofloxacin	2 (2)	5	6.5	6 - 7	-	-	2

Tabel 4.2.10.a. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (Neosensitabs ladingen) voor staal M/4088 (*Staphylococcus aureus*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g}$ /schijfje of U/schijfje igv penicilline)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline	4 (5)	5	9	9 - 18	-	-	5
Oxacilline	2 (2)	1	15	9 - 21	-	-	2
Cefoxitine	3 (5)	60	21	18 - 24	-	-	5
Gentamicine	4 (5)	40	31.5	26 - 36	5	-	-
Vancomycine	3 (4)	5	19	18 - 23	4	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	1 (2)	10	9	9 - 9	-	-	2
Levofloxacin	- (1)	-	-	-	-	-	1
Moxifloxacin	- (1)	5	15	15 - 15	-	-	1
Ofloxacin	1 (1)	10	9	9 - 9	-	-	1

Tabel 4.2.10.b. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (CLSI ladingen) voor staal M/4088 (*Staphylococcus aureus*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ( $\mu\text{g}$ /schijfje of U/schijfje igv penicilline)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Penicilline	2 (2)	10	9	9 - 9	-	-	2
Oxacilline	1 (1)	1	19	19 - 19	-	-	1
Cefoxitine	2 (2)	30	17	9 - 25	-	-	2
Gentamicine	1 (1)	10	25	25 - 25	1	-	-
Vancomycine	2 (2)	30	17.5	17 - 18	2	-	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	2 (2)	10	9	9 - 9	-	-	2



Tot slot dient vermeld dat:

- 3 laboratoria de gevoeligheid voor oxacilline en 2 de gevoeligheid voor methicilline bepaalden met screeningsbodems
- 6 laboratoria de gevoeligheid voor vancomycine bepaalden met screeningsbodems
- 1 laboratorium besloot dat het een methicilline resistente *S. aureus* (volgens CLSI 2008) betrof dankzij volgende testen: Opsporen PBP-2 dmv latex-agglutinatie test = negatief. Opsporen *mecA* gen dmv PCR (genex X-pert- = negatief bij 0,005 McFarland; bij 0,5 McFarland positief signaal echter hoge CT (cycle threshold) waarde: 34,2.
- 1 laboratorium niet vermeldde welke techniek zij gebruikte ter bepaling van de gevoeligheid voor methicilline

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

- Oxacilline:
  - o S→R
    - Papieren schijfjes: 1 labo
    - Sirscan CLSI: 1 labo
    - Vitek 2: 1 labo
- Cefoxitine:
  - o S→R
    - Papieren schijfjes: 1 labo
    - Rosco Neosensitabs: 3 labo's (waarvan 1 mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken)
  - o I→R
    - Papieren schijfjes: 1 labo
    - Rosco CLSI: 1 labo
    - Sirscan CLSI: 1 labo
    - Osiris: 1 labo
- Methicilline
  - o S→R
    - Rosco Neosensitabs: 1 labo

## V. PARASITOLOGIE

### 5.1. De monsters

Ter gelegenheid van deze enquête werden 2 geformaliseerde fecesstalen verzonden.

Voor staal P/8374 hebben 175 laboratoria een antwoord ingestuurd; voor staal P/8935 hebben 174 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 50.6%. Wij zouden willen vragen om zoveel mogelijk van deze antwoordmogelijkheid gebruik te maken. Benevens 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/8374:

"Staal afkomstig van een adoptiekindje uit Haïti."

Staal P/8935:

"Diarree zonder koorts of andere spijsverteringstoornissen (geen nausea, geen braken) enkele dagen na terugkeer van een reis naar India."

Staal P/8374 bevatte eieren van *Hymenolepis nana*; eveneens cysten van *Chilomastix mesnili*, van *Entamoeba coli* en van *Blastocystis hominis*.

Staal P/8935 bevatte geen parasieten .

Dit staal bevatte wel talrijke gisten.

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

## 5.2. Resultaten

### 5.2.1 Staal P/8374

De 175 laboratoria leverden 367 antwoorden in. 3 laboratoria antwoordden "Afwezigheid van parasieten", 68 laboratoria antwoordden één parasiet, 49 antwoordden 2 parasieten, 30 antwoordden 3 parasieten, 18 laboratoria antwoordden 4 parasieten, 6 laboratoria antwoordden 5 parasieten en 1 laboratorium 6 parasieten. De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.2.1.1. Resultaten voor staal P/8374

Resultaat	Aantal
<i>Hymenolepis nana</i>	161
<i>Blastocystis hominis</i>	66
<i>Entamoeba coli</i>	61
<i>Chilomastix mesnili</i>	21
<i>Entamoeba hartmanni</i>	16
<i>Endolimax nana</i>	14
<i>Hymenolepis diminuta</i>	13
<i>Retortamonas intestinalis</i> <sup>1</sup>	1
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	2
<i>Entamoeba histolytica</i>	2
<i>Ancylostomatoidea</i>	1
<i>Cryptosporidium parvum</i>	1
<i>Endolimax diminuta</i>	1
<i>Entamoeba species</i>	1
<i>Fasciola hepatica</i>	1
<i>Taenia solium</i>	1
<i>Taenia species</i>	1
Afwezigheid van parasieten	3
<b>Totaal</b>	<b>367</b>

<sup>1</sup> Het antwoord *Retortamonas intestinalis* is aanvaardbaar (cfr. 5.3 Commentaar betreffende *C. mesnili*)

De antwoorden "Afwezigheid van parasieten" zijn te wijten aan een staalverwisseling: deze 3 laboratoria hebben immers *H. nana* of een combinatie van parasieten (met onder meer *H. nana*) geantwoord voor staal P/8935. Het antwoord *F. hepatica* is wellicht eveneens ingeleverd door een laboratorium dat beide stalen omgewisseld heeft: voor staal

P/8935 antwoordde dit laboratorium een combinatie van verschillende parasieten (met onder meer *H. nana*).

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

Tabel 5.2.1.2. Combinaties van 2 parasieten geantwoord voor staal P/8374

Combinatie van parasieten	Aantal
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	21
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba coli</i>	19
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	2
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Endolimax nana</i>	2
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Hymenolepis diminuta</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Ancylostomatoidea</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
<i>Endolimax nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
Totaal	49

Tabel 5.2.1.3. Combinaties van 3 parasieten geantwoord voor staal P/8374

Combinatie van parasieten	Aantal
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	13
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	2
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Endolimax nana</i>	2
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Endolimax nana</i>	2
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Hymenolepis diminuta</i>	2
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Hymenolepis diminuta</i>	2
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Entamoeba species</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Entamoeba histolytica</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<b>Totaal</b>	<b>30</b>

Tabel 5.2.1.4. Combinaties van 4 parasieten geantwoord voor staal P/8374

Combinatie van parasieten	Aantal
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	8
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	3
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Endolimax nana</i>	2
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Hymenolepis diminuta</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Retortamonas intestinalis</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Chilomastix mesnili</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Hymenolepis diminuta</i>	1
<b>Totaal</b>	<b>18</b>

Tabel 5.2.1.5. Combinaties van 5 parasieten geantwoord voor staal P/8374

Combinatie van parasieten	Aantal
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Chilomastix mesnili</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	4
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Chilomastix mesnili</i> + <i>Hymenolepis diminuta</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Chilomastix mesnili</i> + <i>Endolimax nana</i>	1
Totaal	6

Tabel 5.2.1.6. Combinatie van 6 parasieten geantwoord voor staal P/8374

Combinatie van parasieten	Aantal
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Chilomastix mesnili</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Endolimax nana</i>	1
Totaal	1

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Hymenolepis nana* worden in volgende tabel weergegeven.

Tabel 5.2.1.7. Evolutiestadia voor *Hymenolepis nana* voor staal P/8374

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Ei	154
Bevrucht ei	2
Cyste	5
Totaal	161

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Blastocystis hominis* worden in volgende tabel weergegeven.

Tabel 5.2.1.8. Evolutiestadia voor *Blastocystis hominis* voor staal P/8374

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Cyste	53
Cystlike stage	1
Oöcyste	1
Central body form	1
Vacuolaire vorm	1
Trofozoïet	3
Vegetatieve vorm	2
Ei	1
Niet gepreciseerd	3
Totaal	66

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Entamoeba coli* worden in volgende tabel weergegeven.

Tabel 5.2.1.9. Evolutiestadia voor *Entamoeba coli* voor staal P/8374

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Cyste	60
Oöcyste	1
Totaal	61

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Chilomastix mesnili* worden in volgende tabel weergegeven..

Tabel 5.2.1.10. Evolutiestadia voor *Chilomastix mesnili* voor staal P/8374

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Cyste	21
Totaal	21

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Entamoeba hartmanni* worden in volgende tabel weergegeven.

Tabel 5.2.1.11. Evolutiestadia voor *Entamoeba hartmanni* voor staal P/8374

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Cyste	16
Totaal	16

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Endolimax nana* worden in volgende tabel weergegeven.

Tabel 5.2.1.12. Evolutiestadia voor *Endolimax nana* voor staal P/8374

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Cyste	11
Ei	2
Niet gepreciseerd	1
Totaal	14

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Hymenolepis diminuta* worden in volgende tabel weergegeven.

Tabel 5.2.1.13. Evolutiestadia voor *Hymenolepis diminuta* voor staal P/8374

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Cyste	13
Totaal	13



### 5.2.2 Staal P/8935

156 laboratoria antwoordden "afwezigheid van parasieten"; 16 laboratoria antwoordden één parasiet, 1 laboratorium 2 parasieten en 1 laboratorium 4 parasieten.

De antwoorden worden in onderstaande tabel weergegeven :

Tabel 5.2.2.1. Antwoorden voor staal P/8935

Parasiet	Aantal
Afwezigheid van parasieten	156
<i>Ancylostoma duodenale</i>	4
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	3
<i>Strongyloides stercoralis</i>	3
<i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Endolimax nana</i>	1
<i>Schistosoma intercalatum</i>	1
<i>Schistosoma mansoni</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i>	2
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	1
Totaal	174

De laboratoria die *H. nana* of een combinatie van 2 of 4 parasieten geantwoord hebben, hebben vermoedelijk beide stalen omgewisseld.

Enkele laboratoria hebben een opmerking gegeven bij dit staal: 3 laboratoria vermeldden de aanwezigheid van gisten en 1 laboratorium de aanwezigheid van een ei van een mijt (niet-pathogeen); één laboratorium antwoordde "afwezigheid van parasieten" maar vermeldde een zeldzame *Strongyloides*-like larve gezien te hebben en dat het dit staal in routine naar het Instituut voor Tropische Geneeskunde zou doorsturen. Eén laboratorium gaf de opmerking "Delhi belly".

### 5.3. Commentaar betreffende *C. mesnili*

*H. nana*, *B. hominis* en *E. coli* werden uitvoerig besproken in recente EKE rapporten (respectievelijk 2007/2, 2004/3 en 2007/2).

Het commentaar zal zich dan ook beperken tot een bespreking van *C. mesnili*.

Evenals de genera *Giardia* en *Dientamoeba* behoort het genus *Chilomastix* tot de flageldragende protozoa of flagellaten die men in stoelgang kan aantreffen. Na ingestie met gecontamineerd water of voedsel verblijft het organisme in het caecum of colon van de mens. *Chilomastix* komt wereldwijd voor en wordt algemeen beschouwd als een niet-pathogene flagellaat. Cysten en in mindere mate vegetatieve vormen worden vrij frequent aangetroffen in de stoelgang van gezonde personen. Hoewel ze niet pathogeen zijn is het belangrijk ze te herkennen en te onderscheiden van echte pathogenen in klinische stalen omdat ze een indicatie geven over blootstelling aan fecale contaminatie. Opvolgstalen kunnen echte pathogenen aan het licht brengen.

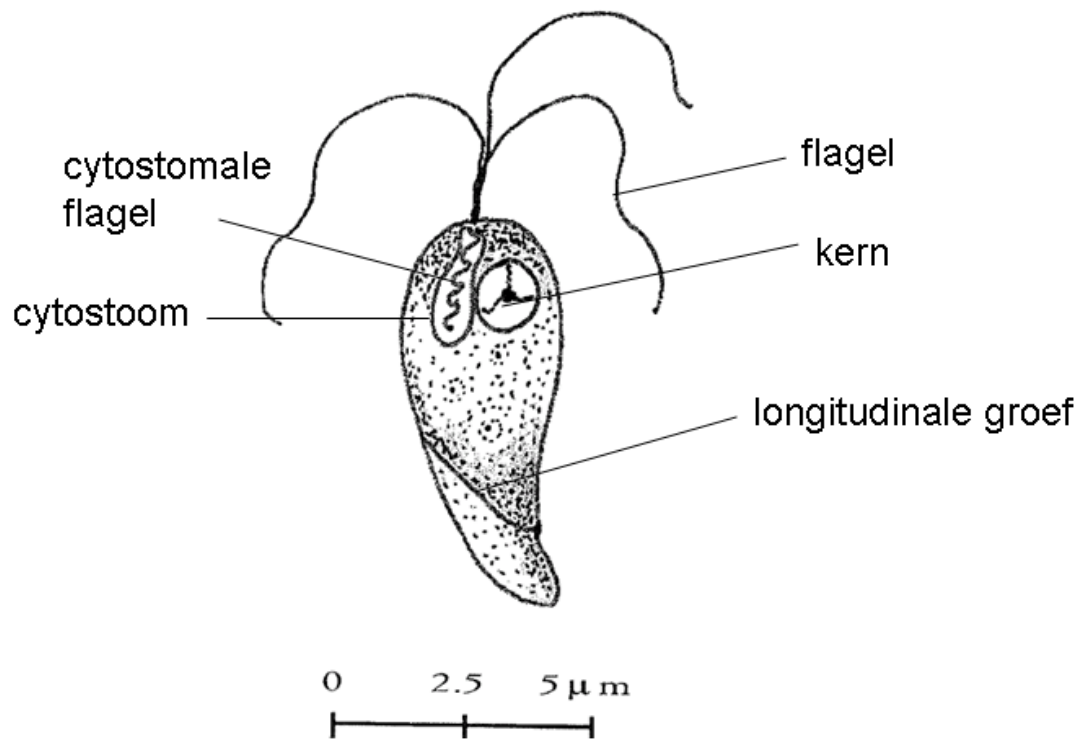
Zoals *Giardia* heeft *Chilomastix* twee stadia, trofozoïeten en cysten.

De trofozoïeten die teruggevonden worden in (half)vloeibare stoelgang, zijn 6-20 op 4-7  $\mu\text{m}$ . Ze hebben een kern die vooraan ligt en een cytostoom, soms in de vorm van het cijfer 8. De trofozoïeten bewegen traag door spiraalsgewijs te roteren rond hun longitudinale as. Ze hebben vier flagellen waarvan er drie naar voor liggen. De vierde -cytostomale- flagel is korter en ligt naar achter. De trofozoïeten hebben een puntig achtereinde en vertonen een longitudinale groef die men soms kan zien bij de roterende beweging in zeer verse preparaten (figuur 1).

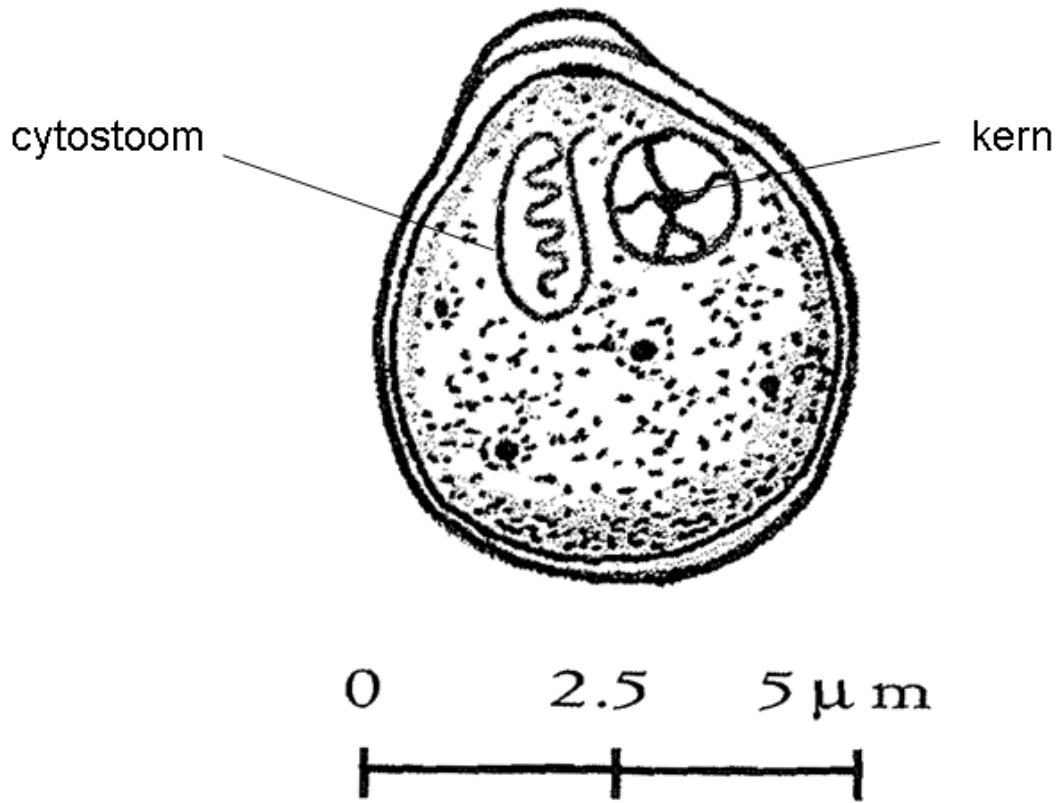
Tenzij men de stoelgang onmiddellijk bekijkt of fixeert, zal men enkel cysten aantreffen. De cysten zijn 6-10  $\mu\text{m}$  lang en peer- of citroenvormig en hebben een fijn cytoplasma. Vooraan vertonen ze een hyaliene uitstulping waar de ruimte tussen de cystewand en de ingesloten trofozoïet duidelijk zichtbaar is. Het is deze anterieure uitstulping die de cysten kenmerkt. Ze hebben één kern, bevatten enkele (restanten van) flagellen en vertonen een verdikking aan één zijde van het perifeer chromatine van de kern (figuur 2). De interne structuren zijn moeilijk te zien in niet-gekleurde preparaten.

Theoretisch dient het genus *Chilomastix* onderscheiden te worden van *Retortamonas intestinalis* en *Enteromonas hominis*, twee andere genera binnen de familie van de Retortomonadidae die voorkomen in warm en gematigd klimaat. Ze hebben een iets andere organisatie van hun flagellen, maar het onderscheid is microscopisch quasi niet mogelijk en daar deze beiden ook niet-pathogene flagellaten zijn, is het klinisch van geen enkel belang.

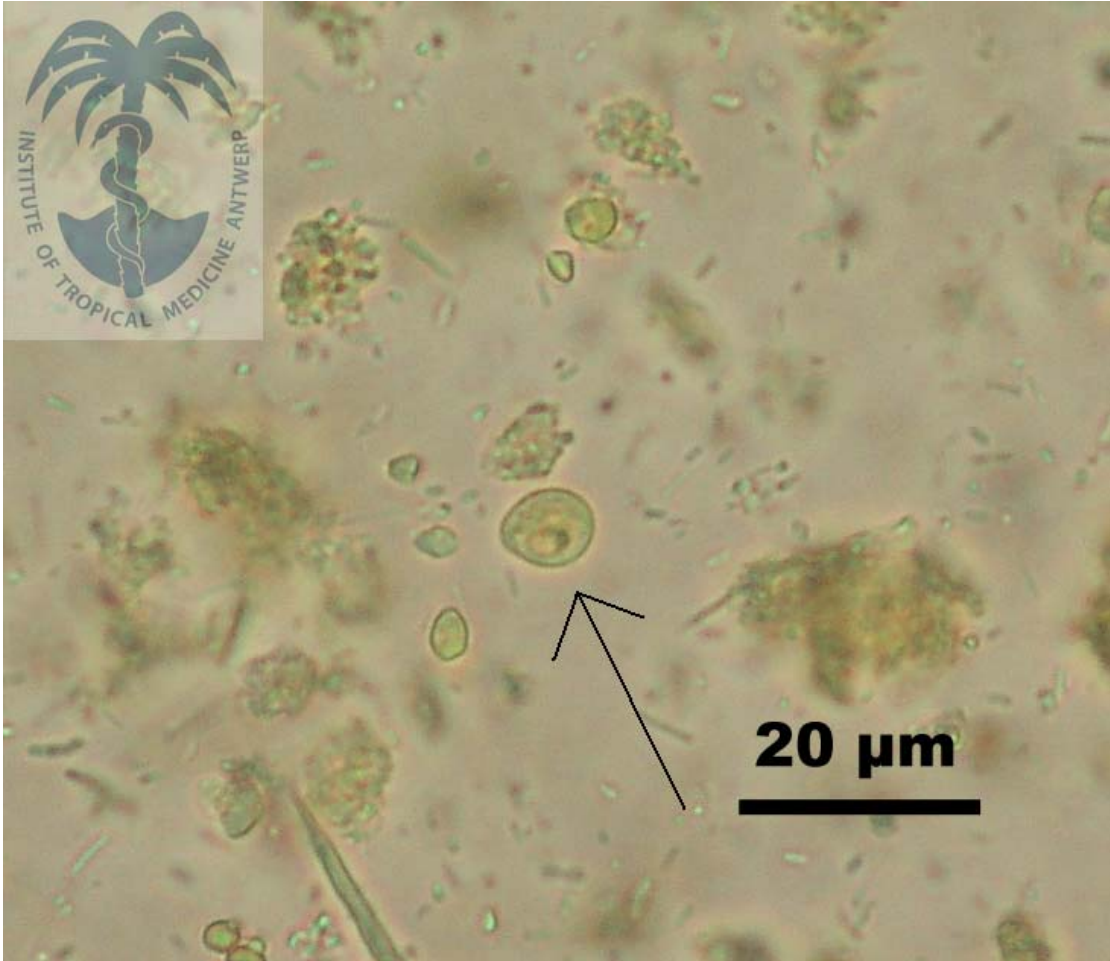
Met dank aan Idzi Potters, labo parasitologie ITG, voor de foto's.



Figuur 1



Figuur 2



Figuur 3



Figuur 4

## VI. SEROLOGIE

### 6.1. Beschrijving van de monsters

Er waren 2 gelyofiliseerde plasmamonsters, S/8823 en S/6973 waarop antistoffen tegen syfilis bepaald dienden te worden.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen :

S/6973

"Meisje van 5 jaar, een 2-tal maand geleden geadopteerd uit Afrika. Ze verbleef daar in een opvangcentrum voor weeskinderen in Afrikaans oorlogsgebied. Ze vertoont koorts, keelpijn, anorexie en icterische sclerae. Levertesten blijken verstoord. Anamnese verloopt moeizaam."

S/8823

"Jonge man van 28 jaar komt op de consultatie bij huisarts met vage klachten (moe, malaise, myalgie) en een zeer discrete maculaire rash op zijn romp die hij zelf niet had opgemerkt. Eveneens is de rash merkbaar op handen en voetzolen. Hij heeft verschillende losse seksuele contacten. Hij past vaak op zijn petekindje dat ongeveer 3 weken geleden een virale infectie doormaakte."

De verwachte interpretaties waren:

S/6973: Geen antilichamen detecteerbaar

S/8823: Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve (niet-behandelde) infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera.

Nota: staal S/8823 werd reeds in de enquête 2006/1 verstuurd onder nummer S/6634.

Er waren 2 "klaar-voor-gebruik" stalen (S/6626 en S/7735) voor de bepaling van HIV-antistoffen.

Staal S/6626 was negatief.

Staal S/7735 was positief.

Er was tevens 1 staal (S/8909) waarop de bepaling van het RSV-antigen gevraagd werd. Dit staal was positief.

## 6.2. Syfilis

### 6.2.1 De deelnemers

In het totaal stuurden 168 laboratoria hun enquêteformulier terug: 162 Belgische en Luxemburgse laboratoria, 3 buitenlandse laboratoria (Frankrijk, Letland), en 3 firmalaboratoria. Deze laatste 6 werden niet in de verdere verwerking opgenomen. De firmalaboratoria gebruikten volgende technieken: Liaison Treponema screen (DiaSorin), Treponema pallidum ELISA IgG, Treponema pallidum ELISA IgM, WB Treponema pallidum IgG, WB Treponema pallidum IgM (Euroimmun (verdelers Biognost)), RecomWell Treponema IgG, RecomWell Treponema IgM, RecomBlot Treponema IgG, RecomBlot Treponema IgM (Mikrogen (verdelers Euribel)).

Op staal S/6973 voerden de 162 laboratoria 333 testen uit, met name 185 treponemale testen en 148 niet-treponemale testen.

10 laboratoria voerden 1 test uit, 135 laboratoria voerden 2 testen uit, 15 laboratoria 3 testen en 2 laboratoria 4 testen.

Op staal S/8823 voerden ze 351 testen uit, met name 199 treponemale testen en 152 niet-treponemale testen.

4 laboratoria voerden 1 test uit, 133 laboratoria voerden 2 testen uit, 21 laboratoria 3 testen, 2 laboratoria 4 testen en 2 laboratoria 5 testen.

NB voor staal S/8823 hebben we voor een laboratorium dat de resultaten van IgG en IgM van de Trepo-Spot IF (bioMérieux) apart vermeld heeft, deze als 1 test beschouwd. De firma bioMérieux vermeldt trouwens dat Trepo-Spot IF enkel gevalideerd is voor gebruik met Fluoline H (totale antilichamen).



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

Tabel 6.2.1. Overzicht van het type en combinaties van de gebruikte testen (aantal laboratoria)

Aantal testen	Type test	S/6373	S/8823
1 test uitgevoerd	1 x treponemaal	9	3
	1 x niet-treponemaal	1	1
2 testen uitgevoerd	1 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	131	127
	2 x treponemaal	4	6
3 testen uitgevoerd	2 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	14	21
	3 x treponemaal	1	-
4 testen uitgevoerd	3 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	2	2
	4 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	-	1
5 testen uitgevoerd	5 x treponemaal	-	1
	Totaal	162	162

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

Type test	S/6373	S/8823
Eén test: treponemaal	9	3
Eén test: niet-treponemaal	1	1
Combinatie treponemaal + niet-treponemaal	147	151
Combinatie enkel treponemaal	5	7
Totaal	162	162

## 6.2.2 Gebruikte reagentia

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

Tabel 6.2.3. Reagentia gebruikt in de Syfilis-serologie

Fabrikant	Kit	S/6973	S/8823
Abbott	Murex Syfacard-R	32	33
	Architect Syphilis TP	17	17
	Murex TPHA kit	3	3
	Murex ICE Syphilis	1	1
	Determine Syphilis TPHA	-	1
	Niet gepreciseerd RPR	1	1
Alldiag	TPHA Check	1	1
	VDRL Check/RPR	1	1
Axis Shield	Niet gepreciseerd TPHA	1	1
Becton Dickinson	Macro-Vue RPR Card Test	12	14
Biokit	Syphagen TPHA Rec Plus	6	6
	RPR-Reditest	9	10
	Syphagen TPHA	1	1
bioMérieux	RPR-nosticon II	23	23
	Trepo-Spot IF	8	10
	RPR Slide Test	1	1
BioRad	TPHA Screening 500	1	1
	TPHA 200	1	1
	VDRL Latex	1	1
	Niet gepreciseerd TPHA	1	1
Biosystems	RPR Carbon	8	8
Biotest	Meddens T. pallidum IgM EIA	-	1
Diagast	SypalCB	3	3
Diamed	ID-Pagia	3	3
DiaSorin	Liaison Treponema Screen	22	22
	ETI-Treponema Screen	1	1
Diesse (verdelers International Medical)	Chorus syphilis screening recombinant	6	6
Euroimmun (verdelers Biognost)	Treponema pallidum ELISA IgG	2	2
	Treponema pallidum ELISA IgM	1	1
	Treponema pallidum FTA-Abs IgG	-	1
	Treponema pallidum FTA-Abs IgM	-	1
Forlab	TPHA Test kit	2	2
Fujirebio (verdelers Lameris)	Serodia TPPA	86	89
Innogenetics	Inno-Lia Syphilis Score	1	4
	Inno TPHA Olympus	2	2
Lameris	RPR	1	1
Lucron	Niet gepreciseerd TPHA	1	2
Medigal	RPR latex	1	1
New Market Laboratories Ltd	TPHA 200	1	1
	Niet gepreciseerd RPR	1	1

Omega	Immutrep RPR kit	7	7
	Immutrep TPHA kit	2	2
	Immutrep Carbon antigen	1	1
Oxoid	VDRL test kit	2	2
	TPHA test	1	1
Plasmatec (verdelers Forlab)	RPR Test kit	7	7
	VDRL Carbon antigen	3	3
	TPHA Test kit	-	1
Randox	RPR Test	1	1
Servibio (verdelers Biognost)	Servitex TPHA	2	2
Siemens (Dade Behring)	Cellognost Syphilis H Combipack	6	6
	Enzygnost Syphilis	4	4
	VDRL Cardioliipin Ag	2	2
Spinreact	RPR Carbon	30	30
	VDRL	1	1
Niet gepreciseerd	Niet gepreciseerd FTA	1	1
<b>Totaal</b>		<b>333</b>	<b>351</b>

## 6.2.3 Resultaten

### 6.2.3.1 Staal S/6973

- **Treponemale testen**

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat (ongeacht of het de totale As, IgG of IgM betrof). Laboratoria die meerdere technieken gebruikten, bekwamen met elke techniek een negatief resultaat.

- **Niet-treponemale testen**

147 laboratoria die de niet-treponemale testen bepaalden bekwamen een negatief resultaat; 1 laboratorium bekwam een positief resultaat.

- **Interpretatie**

De meeste laboratoria kozen voor "Geen antilichamen detecteerbaar".

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

Tabel 6.2.4. Interpretatie voor staal S/6973 (syfilis)

Interpretatie	Aantal
Geen antilichamen detecteerbaar <sup>1</sup>	159
Negatief	1
Geen interpretatie: laboratorium is enkel transfusiecentrum (Luxemburgs laboratorium)	1
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een <b>actieve</b> (niet-behandelde) infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera. <sup>2</sup>	1
<b>Totaal</b>	<b>162</b>

<sup>1</sup> Het laboratorium dat een positief resultaat bekwam voor de niet-treponemale test (maar een negatief voor de beide treponemale testen dat het gebruikte) gaf eveneens dit antwoord.

<sup>2</sup> Dit laboratorium heeft vermoedelijk de interpretaties omgewisseld: het resultaat van de enige (treponemale) test die het laboratorium uitvoerde was immers negatief; en voor staal S/8823 (met 2 positieve treponemale testen) antwoordde het laboratorium: "Geen antilichamen detecteerbaar"

### 6.2.3.2 Staal S/8823

- **Treponemale testen**

Twee laboratoria hebben IgM antistoffen bepaald; het ene bekwam een positief resultaat; het tweede laboratorium deed dit met 2 verschillende technieken en bekwam een positief en een negatief resultaat.

Twee laboratoria hebben IgG antistoffen bepaald; het ene bekwam een positief resultaat; het tweede laboratorium deed dit met 2 verschillende technieken en bekwam een positief en een borderline resultaat.

Eén laboratorium vermeldde de IgG bepaald te hebben met de Trepo-Spot IF (resultaat: positief); een ander laboratorium vermeldde IgG (resultaat: positief) en IgM (resultaat: negatief) bepaald te hebben met deze kit. Nochtans bevestigde de firma bioMérieux dat Trepo-Spot IF enkel gevalideerd is voor gebruik met Fluoline H (totale antilichamen).

De resultaten van de totale antistoffen per laboratorium worden weergegeven in tabel 6.2.5.

Tabel 6.2.5. Resultaten van de treponemale totale AS per laboratorium voor staal S/8823.

Resultaat	N labo's
Positief <sup>1</sup>	147
Borderline	3
Negatief	5
Positief/borderline <sup>2</sup>	1
Positief/negatief <sup>2</sup>	2
Positief/Positief/negatief <sup>2</sup>	1
Geen antwoord <sup>3</sup>	1
<b>Totaal</b>	<b>160</b>

<sup>1</sup> 24 laboratoria die 2 technieken gebruikten en 1 laboratorium dat 3 technieken gebruikte, bekwamen voor alle gebruikte methoden een positief resultaat.

<sup>2</sup> Deze laboratoria bekwamen verschillende resultaten voor de verschillende gebruikte methoden.

<sup>3</sup> Dit laboratorium gaf wel een kwantitatief resultaat (titer 1/80) maar geen kwalitatieve interpretatie.

De negatieve resultaten werden bekomen met volgende kits: Cellognost Syphilis H Combipack (4), Syphagen

TPHA Rec Plus (2), Immutrep TPHA kit (1) en TPHA Test (1).

De borderline resultaten werden bekomen met volgende kits: Syphagen TPHA Rec Plus (1), Immutrep TPHA kit (1), Serodia TPPA (1) en Trepo-Spot IF (1).

De firma's met kits die negatieve resultaten bekwamen, werden gecontacteerd met de vraag het probleem te onderzoeken: het betreft: Siemens (Cellognost Syphilis H Combipack: 6 gebruikers: 4-, 2+), Biokit (Syphagen TPHA Rec Plus: 6 gebruikers: 2-, 1+/-, 3+), Omega (Immutrep TPHA kit: 2 gebruikers: 1-, 1+/-) en Oxoid (TPHA Test: 1 gebruiker: 1-).

De firma Oxoid heeft het lotnummer van zijn kit, dat dergelijke problemen opleverde ondertussen van de markt teruggetrokken.

De firma Siemens verwees naar de analyse die zij op hetzelfde staal uitgevoerd hebben in 2006 (met een positief resultaat in 2 verschillende laboratoria van Dade in Marburg) en naar hun toenmalige besluit:

"This would explain that the qualitative test procedure was determined just positive (test dilution 1:51) and the quantitative test procedure dilution 1:80 was determined negative, what means is below the detection limit of Cellognost Syphilis.

We did the testings in three different lots. Getting the same results in all lots and reviewing again carefully the release data, provides evidence that we can exclude a lot related problem.

Basically we are of the opinion that in this case we have a sample that escapes detection with our Cellognost Syphilis assay applying the quantitative detection.

Since we know that for an very early stage of infection we can not exclude this we have corresponding statement in the Instructions for Use :

Since infections in a very early phase may not be detected by the hemagglutination test, the FTA-ABS IgM test should be performed if there is a negative result and syphilis is nevertheless suspected.

Titer course controls for monitoring the success of therapy cannot be performed with Cellognost Syphilis H because of the long persistence of high antibody titers. The cardiolipin microflocculation test (VDRL test) or the cardiolipin CFT is recommended for the purpose.

Beside this we would like to emphasize that we on a regular base participate in other proficiency trial e.g. (INSTAND).

We successfully passed that every time. In particular end last year applying one of the lots which failed with your sample. So our statement is that in general we provide a test of good constant quality. In this special case with this sample from an very early stage of infection we have to face that we reached the detection limitation of our test."

De firma Biokit bezorgde ons volgende resultaten en besluit van hun onderzoek:

"De stalen van deze rondzending zijn opgestuurd naar Biokit en daar geanalyseerd met de laatste 3 lotnummers van de:

- Biokit Syphagen TPHA recombinant kit
- Biokit Syphagen TPHA kit met het natuurlijke antige

De verdunning 1/40 werd ook meegenomen om te bepalen of het een staal betrof met een concentratie lager dan de detectielimiet van beide Biokit Syphagen TPHA kits. De normale assay detectielimiet is 1/80.

Twee van de 3 lotnummers van de Syphagen TPHA recombinant kit geven een negatief resultaat bij de verdunning 1/40 en 1/80. Alleen Lot D-1308 geeft een zwak positief resultaat bij de verdunning 1/80.

De 3 lotnummers van de Syphagen TPHA natural antige kit geven duidelijk positieve resultaten bij verdunningen 1/80 - 1/160.

Het is mogelijk dat de resultaten uit deze Belgische rondzending het gevolg is van een mix van deelnemers welke de beide Syphagen TPHA reagentia gebruiken. De

negatieve resultaten zijn dan blijkbaar door de Syphagen TPHA recombinant gebruikers geleverd.

Het kan voorkomen dat de Treponema pallidum antistoffen in het staal niet reageren met de aminozuursequenties in het recombinante reagens. Het Syphagen TPHA recombinant reagens bevat de p15, p17 en p47 regionen van Treponema pallidum. Hoewel deze sequenties het meest immunoreactief zijn kan het in zeldzame gevallen voorkomen dat de patiënt nog geen antistoffen gemaakt heeft welke door het recombinant antigeen herkend worden.

Verder wijst Biokit er op dat de gebruikers van de Syphagen TPHA recombinant kit geïnformeerd zijn dat deze kit niet meer geproduceerd wordt vanwege het kleine aantal afnemers van deze kit. Biokit beveelt het gebruik van de Syphagen TPHA natural antigeen kit aan bij alle gebruikers in de BeNeLux."

De firma Omega bezorgde ons volgende resultaten en besluit van hun onderzoek:

"We have tested the sample S/8823 with both lots of TPHA Kits with the following results:

**Kit 7011369 Expiry 2008-09**

	Expected Titre	Result at 16/01/09
bioMérieux - 817521101	1/5120	1/5120
Positive Control	1/2560	1/2560
Negative Control	Neg	Neg
Sample from IMP		
Serum titre (without dilution of test cells factor)		1/320-1/640
Final Titre (including Test Cell dilution factor)		1/1280-1/2560
Control Cells	All Neg	All Neg



### Kit 7016748 Expiry 2009-10

	Expected Titre	Result at 16/01/09
bioMérieux - 817521101	1/5120	1/2560
Positive Control	1/2560	1/1280
Negative Control	Neg	Neg
Sample from IMP		
Serum titre (without dilution of test cells factor)		1/160-1/320
Final Titre (including Test Cell dilution factor)		1/640 - 1/1280
Control Cells	All Neg	All Neg

From these results it can be seen that both Batches are within specification (bioMérieux and positive control within on double dilution of expected result).

Sample S/8823 should have been reported as Positive.

There is a difference of one double dilution between the kits however in each case the first three wells of the titre are clearly positive. (1/20, 1/40 and 1/80 - serum dilution: 1/80, 1/160, 1/320 - final dilution).

It would seem impossible for either kit to give a negative or borderline result - and much less probable for both batches to give the incorrect result.

It is therefore probable that the interpretation of the kit results has been performed incorrectly.

Using the reaction patterns as described please advise the titre the customer achieved using the kit Positive Controls (serum titre - without the dilution factor of the test cells). This would confirm that the particular kit used was performing satisfactorily.

It is especially pleasing to note that batch 7011369 continues to perform satisfactorily despite approaching four months past its expiry date"

Voor de kits met een voldoende aantal gebruikers hebben wij mediaan, minimum en maximum bepaald, voor zover de laboratoria een kwantitatief resultaat geantwoord hebben en in dezelfde eenheden gerapporteerd hebben. Deze resultaten worden weergegeven in tabel 6.2.6.

Tabel 6.2.6. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor treponemale testen op staal S/8823 voor de meest gebruikte kits.

Kit	Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
Architect Syphilis TP (index S/CO)	17	15.06	11.32	17.27
Serodia TPPA (titer)	88	1/320	1/4	1/5120
Syphagen TPHA Rec Plus (titer) <sup>1</sup>	4	1/160	1/80	1/320
Trepo-Spot IF (titer)	7	1/50	1/5	1/1280
Cellognost Syphilis H Combipack (titer) <sup>2</sup>	3	1/80	0	1/80
Liaison Treponema Screen (index)	22	20	14.4	24.6
Chorus syphilis screening recombinant (index)	6	4.05	2.8	4.8

<sup>1</sup> Tevens antwoordde 1 laboratorium < 1/80; dit is 1 van beide laboratoria die "negatief" antwoordde. Het andere laboratorium dat "negatief" antwoordde, vermeldde het kwantitatieve resultaat niet. Het laboratorium dat de titer 1/80 vermeldde, antwoordde "borderline".

<sup>2</sup> Tevens antwoordde 1 laboratorium < 1/40 en 1 laboratorium < 1/80. De antwoorden "negatief" werden gegeven door deze beide laboratoria, door het laboratorium dat 0 vermeldde en door een vierde laboratorium dat het kwantitatieve resultaat niet vermeldde

- **Niet-treponemale testen**

De resultaten die bekomen werden voor de niet-treponemale testen worden in onderstaande tabel weergegeven.

Tabel 6.2.7. Resultaten voor de niet-treponemale testen voor syfilis op staal S/8823

Resultaat	Aantal
Positief	136
Borderline	7
Negatief	8
Geen antwoord <sup>1</sup>	1
<b>Totaal</b>	<b>152</b>

<sup>1</sup> Dit laboratorium heeft wel een kwantitatief resultaat (titer 1/4) geantwoord doch geen kwalitatieve interpretatie van dit resultaat.

De negatieve resultaten werden bekomen met volgende kits: Spinreact (RPR Carbon 31 gebruikers: 3-, 5 +/-, 23+), bioMérieux (RPR nosticon II: 23 gebruikers: 2-, 21+), Biokit (RPR: 9 gebruikers: 1-, 8+), Siemens (VDRL Cardiolipin Ag: 2 gebruikers: 1-, 1+) en Biorad (VDRL Latex:1 gebruiker: 1-).

Gezien voor de meeste van deze kits het merendeel van de gebruikers een positief resultaat bekwamen, zouden wij aan de gebruikers die een negatief resultaat bekwamen aanraden hun resultaten na te kijken en desgevallend de firma te contacteren.

Voor de kits met een voldoende aantal gebruikers hebben wij mediaan, minimum en maximum bepaald, voor zover de laboratoria een kwantitatief resultaat geantwoord hebben en in dezelfde eenheden gerapporteerd hebben. Deze resultaten worden weergegeven in tabel 6.2.8.

Tabel 6.2.8. Mediaan, minimum en maximum bekomen met de niet-treponemale testen op staal S/8823 voor de meest gebruikte kits; de resultaten worden uitgedrukt in titers.

Kit	Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
Murex Syfacard-R (titer)	32	1/4	1/2	1/40
Macro-Vue RPR Card Test (titer)	14	1/4	1/2	1/16
Biokit RPR (titer) <sup>1</sup>	9	1/2	0	1/4
RPR-nosticon II (titer) <sup>2</sup>	17	1/4	1/2	1/8
Biosystems RPR Carbon (titer)	7	1/4	1/1	1/64
Immutrep RPR kit (titer)	6	1/4	1/2	1/8
Plasmatec RPR kit (titer)	6	1/4	1/2	1/16
Spinreact RPR Carbon (titer) <sup>3</sup>	26	1/2	0	1/8

<sup>1</sup> Het laboratorium dat de titer 0 vermeldde, antwoordde "negatief".

<sup>2</sup> De beide laboratoria die "negatief" antwoordden, hebben de titer niet vermeld.

<sup>3</sup> Tevens antwoordde 1 laboratorium < 1/1.; dit laboratorium en het laboratorium dat de titer 0 antwoordde, zijn de beide laboratoria die "negatief" antwoordden.

#### • Interpretatie

De meeste laboratoria (N = 116) kozen voor "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een **actieve** (niet-behandelde) infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera".

31 laboratoria verkozen "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een **niet-actieve** infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera".

Sommige laboratoria verkozen een eigen interpretatie. Enkele laboratoria spraken zich niet uit op basis van de door hen uitgevoerde test(en) maar stelden dat bijkomende test(en) noodzakelijk zijn.

Het laboratorium dat "Geen antilichamen detecteerbaar" antwoordde, heeft vermoedelijk beide interpretaties omgewisseld (cfr. supra).

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

Tabel 6.2.9. Interpretatie voor staal S/8823 (syfilis)

Interpretatie	Aantal
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een <b>actieve</b> (niet-behandelde) infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera.	116
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een <b>niet-actieve</b> infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera	31
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een <b>actieve</b> (niet-behandelde) infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera. Of Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een <b>niet-actieve</b> infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera <sup>1</sup>	1
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een <b>actieve</b> (niet-behandelde) infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera. Of Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een <b>niet-actieve</b> infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera	1
Vermoedelijk beginnende infectie: serologie op te volgen. <sup>2</sup>	
Suggestief voor een reactivatie (VDRL↑). <sup>3</sup>	1
Positief. <sup>4</sup>	1
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een <b>niet-actieve</b> infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera. En Beginnende infectie of serologisch "littteken" of aspecifieke reactie. Te controleren binnen 3 weken. <sup>5</sup>	1
Te controleren binnen 3 weken. Vervolledigen door virale serologie voor virussen die erupties veroorzaken (Rubella,...). <sup>6</sup>	1
Doorsturen voor confirmatie (VDRL, Innogenetics LIA) <sup>7</sup>	1
Twee mogelijkheden: vals positieve reacties of prille infectie. Kliniek? Hertesten na bvb 3 weken indien anamnese en/of kliniek suggestief zijn <sup>8</sup>	1
Discordantie tussen TPHA et RPR negatief in dilutie, de aanwezigheid van IgM en de positieve anamnese. De kliniek pleit voor een secundaire syfilis. Een infectie door coxackie moet uitgesloten worden. In geval van twijfel moet de patiënt behandeld worden. <sup>9</sup>	1
De serologie moet als negatief beschouwd worden (gedissocieerde serologie). Vermoedelijk vals positieve RPR. <sup>10</sup>	1
Vals positief. <sup>11</sup>	1
Geen antilichamen detecteerbaar. <sup>12</sup>	1
Geen interpretatie: laboratorium is enkel transfusiecentrum (Luxemburgs laboratorium).	1
Geen antwoord. <sup>13</sup>	2
Totaal	162

<sup>1</sup> Dit laboratorium bepaalde enkel de totale As (resultaat: positief) met de Liaison Treponema screen kit.

- <sup>2</sup> Dit laboratorium bepaalde TPFA en VDRL (beiden positief).
- <sup>3</sup> Dit laboratorium bepaalde TPFA en VDRL (beiden positief) en maakte voor de Trepo-Spot het onderscheid tussen de resultaten voor IgG (positief) en IgM (negatief).
- <sup>4</sup> Dit laboratorium bepaalde TPFA en RPR (beiden positief).
- <sup>5</sup> Dit laboratorium bepaalde TPFA, totale As (beiden positief) en RPR (borderline).
- <sup>6</sup> Dit laboratorium bepaalde TPFA (positief) en RPR (borderline).
- <sup>7</sup> Dit laboratorium bepaalde enkel TPFA (positief).
- <sup>8</sup> Dit laboratorium bepaalde TPFA (negatief), VDRL en FTA (beiden positief).
- <sup>9</sup> Dit laboratorium bepaalde TPFA en RPR (beiden negatief), totale As, IgG en IgM (alle 3 positief).
- <sup>10</sup> Dit laboratorium bepaalde TPFA (negatief) en RPR (positief).
- <sup>11</sup> Dit laboratorium bepaalde TPFA (negatief) en RPR (positief).
- <sup>12</sup> Dit laboratorium heeft vermoedelijk de interpretaties omgewisseld: het resultaat van de beide treponemale testen die het laboratorium uitvoerde was immers positief; en voor staal S/6973 (met negatieve treponemale test) antwoordde het laboratorium: "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve (niet-behandelde) infectie".
- <sup>13</sup> Deze beide laboratoria lieten de interpretatie open. Het ene laboratorium bepaalde TPFA (positief) en VDRL (negatief). Het andere bepaalde TPFA en RPR (beiden positief).

Ter informatie geven we hier een overzicht van de interpretaties van de laboratoria die een negatief resultaat bekwamen:

Voor de treponemale test:

- twee laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de niet-treponemale test en gaven de interpretatie: "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een **actieve** (niet-behandelde) infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en para klinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera"
- één laboratorium bekwam een positief resultaat voor de niet-treponemale test en gaf de interpretatie: "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een **niet-actieve** infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en para klinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera"
- één laboratorium bekwam een positief resultaat voor de niet-treponemale test en gaf de interpretatie: "De serologie moet als negatief beschouwd worden (gedissocieerde serologie). Vermoedelijk vals positieve RPR"
- één laboratorium bekwam een positief resultaat voor de niet-treponemale test en gaf de interpretatie: "Vals positief"

- één laboratorium bekwam een positief resultaat voor zijn tweede treponemale test en voor de niet-treponemale test en gaf de interpretatie: "Twee mogelijkheden: vals positieve reacties of prille infectie. Kliniek? Hertesten na bvb 3 weken indien anamnese en/of kliniek suggestief zijn"
- één laboratorium bekwam een positief resultaat voor zijn twee andere treponemale testen en een borderline voor de niet-treponemale test en gaf de interpretatie: "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een **actieve** (niet-behandelde) infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera"
- één laboratorium bepaalde TPHA en RPR (beiden negatief), totale As, IgG en IgM (alle 3 positief) en gaf de interpretatie: "Discordantie tussen TPHA et RPR negatief in dilutie, de aanwezigheid van IgM en de positieve anamnese. De kliniek pleit voor een secundaire syfilis. Een infectie door coxackie moet uitgesloten worden. In geval van twijfel moet de patiënt behandeld worden"

Voor de niet-treponemale test:

- vier laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de treponemale test en gaven de interpretatie: "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een **actieve** (niet-behandelde) infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera"
- één laboratorium bekwam een positief resultaat voor de treponemale test en liet de interpretatie open
- één laboratorium bekwam een positief resultaat voor zijn 2 treponemale testen en gaf de interpretatie: "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een **actieve** (niet-behandelde) infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera"

- één laboratorium bekwam een positief resultaat voor zijn 2 treponemale testen en gaf de interpretatie: Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een **niet-actieve** infectie: de diagnose van actieve syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera"
- één laboratorium bepaalde TPHA en RPR (beiden negatief), totale As, IgG en IgM (alle 3 positief) en gaf de interpretatie: "Discordantie tussen TPHA et RPR negatief in dilutie, de aanwezigheid van IgM en de positieve anamnese. De kliniek pleit voor een secundaire syfilis. Een infectie door coxackie moet uitgesloten worden. In geval van twijfel moet de patiënt behandeld worden.



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

##### Inleiding

De "klassieke" serologische testen vormen nog steeds de hoeksteen in de diagnostiek van secundaire, latente en tertiaire syfilis. Ze vormen eveneens de basis van de monitoring van therapeutisch succes. In het algemeen worden de testen onderverdeeld in 2 categorieën: enerzijds de treponemale testen (TPHA, FTA-absorptie, TPPA, ELISA, CLIA) en anderzijds de niet-treponemale testen (RPR, VDRL), en geen één van beide testen is op zich voldoende voor een correcte interpretatie.

Jammer genoeg kan men in de vroegtijdige fase (dag 1 tot 21 na oplopen van infectie), wanneer de treponemen zich in het lichaam verspreiden, zeker niet rekenen op de "klassieke" serologische testen. Tijdens deze serologische "vensterperiode" dient men zijn toevlucht te nemen tot alternatieve diagnostische technieken met enerzijds de IgM-bepaling via ELISA of CLIA (chemiluminescentie) techniek of anderzijds een onderzoek van een mucosale (interne genitalia, oropharyngeale sites, ano-rectale sites) of cutane wisser. Men kan gebruik maken van een rechtstreeks onderzoek via immunohistochemische technieken/directe of indirecte immunofluorescentietest op een uitstrijkje van een sjanker, of van een moleculair biologische techniek (real-time PCR voornamelijk). Donkerveldmicroscopie is een aanvaardbaar, goedkoop en snel alternatief om de spirocheten aan te tonen reeds in de consultatieruimte, maar wordt in België i.t.t. andere Europese landen zelden gebruikt. Hoedanook zijn de rechtstreekse methodes minder gevoelig dan een PCR-techniek, ze vereisen allen verse en hoog-kwalitatieve monsters en een zekere ervaring, en ze zijn niet geschikt voor mucosale stalen.

##### Onderzocht staal

S/8823

De klinische informatie voor dit staal suggereert dat de patiënt een risicogedrag vertoont voor een eventuele SOA en verwijst naar klinische symptomen die overeen kunnen komen met een laat-primair of een secundair stadium. Nochtans is een acute virose eveneens een mogelijke verklaring voor zijn klinische klachten (differentiaal diagnose).

S/6973

Voor dit jonge meisje dat arriveert uit Centraal Afrika met een vermoeden van acute hepatitis en zonder duidelijke anamnese, is een

breed bilan aangevraagd voor een etiologische zoektocht voor de oppuntstelling van infectieuze hepatitis.

Het infectieus tableau (gesuggereerd door de discrete rash, myalgie, malaise of de icterische sclerae) dient steeds te leiden tot een algemene oppuntstelling die bestaat uit:

- een syfilisserologie (idealiter een combinatie van treponemale en niet-treponemale test)
- een diepgaande anamnese gericht op opsporing van risicogedrag, op schatting van het tijdstip der besmetting, een eventuele vroegere behandeling met antibiotica, land van herkomst en eventueel andere infectiebronnen
- een uitgebreid fysisch onderzoek door de aanvrager
- indien aangewezen: complementaire onderzoeken (medische beeldvorming, cardiologische onderzoeken,...)

Het geheel van bekomen gegevens liet bij S/8823 zeker toe een syfilisinfectie voorop te stellen. Bij het jonge Afrikaanse patiëntje werd een uitgebreide serologie geprikt en kon zo eveneens een eventuele endemische (niet-venerische) trepanomatose worden uitgesloten.

#### Beknopte bespreking van diagnostische mogelijkheden

De niet-treponemale testen hebben voor een primaire syfilis een gemiddelde gevoeligheid van 78% (VDRL) en 86% (RPR), terwijl deze zal stijgen naar 100% in een secundaire syfilis. Deze niet-treponemale testen (NTT) zijn wat minder specifiek, maar ze correleren met de ziekte-activiteit en kunnen gebruikt worden om de respons op therapie te volgen. Hiervoor is een vergelijking van gepaarde sera (analyse van het oude en het nieuwe serumstaal in eenzelfde analysereeks) nodig waartussen men een afname van de antilichaamtiters van minimaal 2 verdunningen (maar in het algemeen 4 diluties) dient vast te stellen, alvorens men de therapie als efficiënt kan beschouwen. De seroreversie zal sneller gebeuren wanneer de infectieduur korter is, wanneer de initiële titer lager is en wanneer het een primo-infectie betreft (i.t.t. reïnfecties). Na een specifieke behandeling zal de negativering optreden in ca. 45% van de gevallen binnen het eerste jaar en tot 75% binnen het tweede jaar. Een beperkte groep patiënten zal ondanks correcte therapie niet negativeren ("serofast"). In een tertiair stadium, dat zal ontwikkelen in één derde van de patiënten die niet het geluk hadden efficiënt behandeld te worden, zal men in

ongeveer 30% van de patiënten geen reactiviteit meer aantreffen in de VDRL/RPR-testen, wat verklaard kan worden door een spontane negativering van de NTT zonder therapeutische interventie. De NTT hebben eveneens hun plaats in de diagnose van neurosyphilis bij toepassing op cerebrospinaal vocht van patiënten met een intacte bloed-hersenbarrière. De CSV VDRL-bepaling heeft een hoge diagnostische specificiteit, maar een lage diagnostische sensitiviteit (30-78%) in neurosyphilis.

De treponemale testen (TT) zijn meer specifiek dan de NTT, maar ze correleren slecht met de ziekte-activiteit en ze zullen positief blijven na behandeling tenzij deze werd opgestart in de acute fase kort na het oplopen van infectie. De gevoeligheid is gesitueerd tussen de 70 tot 80% voor de agglutinatie-testen (TPHA, TPPA) en de 85-90% (FTA-absorptie) voor een primaire syfilis. Voor de EIA-testen (ELISA, CLIA) is de gevoeligheid gesitueerd tussen de 86 en de 92% in een primaire syfilis. In een secundair stadium stijgen de gevoeligheden tot 100%. De specificiteit bedraagt > 99%.

Tot voorheen enkele jaren bij het op de markt komen van commerciële EIA-kits voor de detectie van IgM, was de FTA-absorptie test diegene die het snelst positieveert na recente infectie, maar gezien de arbeidsintensiviteit is het vaak niet haalbaar om deze test te gebruiken als een screeningstest voor "large-scale" testing en daarnaast is deze techniek subjectief en moeilijk te standaardiseren.

De IgM-antistoffen worden detecteerbaar via ELISA/CLIA vanaf de 2de week na infectie indien voorheen geen antibioticatherapie werd ingesteld. De IgG-antistoffen verschijnen in het algemeen vanaf de 4de week na de besmetting wanneer opsporing via een EIA-techniek.

Indien een correcte therapie wordt ingesteld vlak na het oplopen van de infectie, remt deze de evolutie van de ziekte en voorkomt eveneens de ontwikkeling van de antilichaamrespons.

## Algemene vereenvoudigde interpretatie syfilisserologie

### NTT + & TT + :

Vermoeden infectie (! belang van hoogte van de titers)

### NTT - & TT + :

- aspecifieke reactie in TT
- syfilis in een laat stadium (30% patiënten:NTT -)
- voorheen behandelde syfilis
- prozone-effect in NTT

### NTT + & TT - :

- aspecifieke reactie in NTT meest waarschijnlijk
- opgelet: recente infectie ?
- prozone-effect in TT

De blottechnieken positiveren in het vroege stadium van een sjanker, op het moment dat het merendeel van de serologische technieken nog negatief zijn. Gezien hun hoge gevoeligheid (98,5-99,8%) en specificiteit (99,5%) gelinkt aan de specifieke immunodominante recombinante of synthetische proteïnen (majeure antigenen: TpN15, TpN17, TpN47, TmpA,...) waaruit ze zijn samengesteld, en gezien hun objectiviteit en eenvoud, kan men ze beschouwen als confirmatie- en eveneens als referentietechnieken.

De moleculaire testen kunnen uitgevoerd worden op zowel mucosale als cutane wissers, op CSV of op bloed/serumstalen. De gevoeligheid in een primair stadium is omstreeks de 95% maar valt terug op 80% in een secundair stadium. De specificiteit varieert tussen 98-99%. Ze hebben een duidelijk voordeel in de syfilisdiagnostiek van immuungedepriëerde patiënten (HIV-positieve populatie !) en in patiënten die een bloedafname weigeren. Deze technieken kunnen toegepast worden op wissers en biopten van alle lichaamssites (ook op mucosale wissers waar donkerveldmicroscopie of IF-testen vals-positief kunnen zijn door het voorkomen van andere spirocheten, voornamelijk een probleem voor wissers afkomstig van orale sites). Ze kunnen dienst doen als confirmatietesten in congenitale syfilis en de late stadia van infectie.

Een eventuele moleculaire typering van *T.pallidum* subsp. *pallidum* in klinische monsters zou relevant kunnen zijn voor epidemiologische doeleinden met betrekking tot syfilis, en zou als enige test een

klinische discriminatie kunnen toelaten tussen reinfectie en syfilitische reactivatie.

### **Vals-positieve serologie:**

Het voorkomen van vals-positieve serologieën komt voor in ongeveer 1% van de algemene bevolking, en het zal voornamelijk tot uiting komen in de NTT en iets minder frequent in de TT.

Vals-positieve reacties in de NTT zijn geassocieerd met een hoge leeftijd, zwangerschap, oncologische ziekten, IV drugsmisbruik, auto-immuunziekten, immunisatieproces (post-vaccinatie !), immunotherapie en tal van virale (meest uitgesproken in geval van EBV infectie en de virale hepatitisen), protozoaire en mycoplasma infecties. We kunnen een onderscheid maken tussen acute vals-positieve reacties (< 6 maand persistentie) en chronische vals-positieve reacties (persisteren > 6 maand). Gezien chronische vals-positiviteit vaak geassocieerd wordt met auto-immuun aandoeningen (anti-fosfolipidensyndroom, SLE,...) en ziekten waarbij er immunoglobuline-abnormaliteiten voorkomen, beiden vaker bij vrouwen gediagnosticeerd, en eveneens bij zwangerschap, kan men deze chronisch vals-positieve NTT vaker terugvinden bij vrouwen. Meer dan 10% van de intraveneuze druggebruikers vertonen titers in de NTT van > 1/8.

Vals-positieve TT zijn minder prevalent, en kunnen geassocieerd zijn aan bindweefsel-aandoeningen evenals aan auto-immuunziekten, virale infecties en zwangerschap.

### **Vals-negatieve serologie**

**pro-zone fenomeen:** met dit probleem wordt men geconfronteerd op het moment dat de antilichaamtiteren het hoogst zijn, namelijk in een secundair stadium van syfilis, of in geval van concomitante hiv-infectie. Het fenomeen komt voor in 1 à 2% van de patiënten met een secundaire syfilis en is het gevolg van een mismatch tussen de concentraties antigeen en antilichaam, dat in overmaat aanwezig is. Het uit zich als een negatief resultaat wanneer lage verdunningen worden uitgetest, maar de reactiviteit/positiviteit komt tot uiting bij hogere serumdiluties. Een dilutie van het antilichaam tot 1/16 is in het algemeen adequaat om de juiste optimale concentratie te bekomen en eveneens een afleesbare detecteerbare reactie. In de dagelijkse praktijk kan men dit fenomeen het hoofd bieden door steeds meerdere diluties van een serumstaal te gebruiken, met een wat hogere kostprijs tot gevolg. Het komt voor in zowel de NTT als bepaalde TT.

!! Dit prozone- fenomeen vormt een reëel probleem voor de semi-kwantitatieve en kwalitatieve agglutinatie/absorptie-technieken, en

komt niet voor bij de EIA-technieken, wat een extra voordeel aantoont van deze testen.

**serologische "venster"-periode:** zo zullen 20 tot 30% van de patiënten die zich op de consultatie presenteren met een sjanker nog geen serologische evidentie van een syfilisinfectie tonen, natuurlijk variabel afhankelijk van het gebruikte type van techniek. Met de "snelle" diagnostische parameters (IgM-bepaling via CLIA/ELISA, of een Blot IgM) zal dit percentage mogelijk verkleinen (cf. supra).

### Concrete bespreking resultaten kwaliteitscontrole

S/6973

1 laboratorium bekam een positieve NTT, maar gezien i.g.v. een infectieuze hepatitis door syfilis men zeker eveneens een positieve TT verwacht besloot dit laboratorium dat het ging om een aspecifieke reactie (cf. tabel supra), en hebben ze dit serum als negatief beschouwd.

We verwijzen naar de mogelijke aanwezigheid van antecedenten van een vroeger contact met niet-venerische trepanomatosen. De 3 andere humane pathogene trepanomatosen die interpretatieve problemen kunnen geven wanneer mensen uit endemisch gebied een positieve TT en NTT vertonen in afwezigheid van duidelijke anamnese zijn *T.pallidum* subsp. *endemicum*, *T.pallidum* subsp. *pertenue* en *T.carateum*. Deze 3 species worden overgedragen via niet-venerische weg, meestal via direct contact in de kindertijd. Vergelijkbaar met syfilis, veroorzaken ze gelokaliseerde primaire lesies, soms zweren, en gedissemineerde huid- of mucosale lesies. In tegenstelling tot syfilis zal het centraal zenuwstelsel niet betrokken worden, en evenmin zien we congenitale transmissie. De laattijdige sekwellen zijn in het algemeen beperkt tot huid, bot, kraakbeen en mucosale oppervlakten. Gezien de hoge mate van antigenische verwantschap tussen de pathogene treponemata, is er tot op heden geen enkele serologische test beschikbaar die in staat is om de niet-venerische en de venerische treponemale infecties van elkaar te onderscheiden. Immunoblot studies konden geen significante verschillen in de antigenen tussen *T.pallidum* subsp. *pallidum* en de andere pathogene trepanomatosen aan het licht brengen

S/8823

Treponemale testen

We zien voor bepaalde kits (o.a. Serodia: range van 1/4 tot 1/5120) een belangrijke spreiding in titers van de TT, wat vragen kan doen rijzen omtrent de reproduceerbaarheid van deze eerder subjectieve testen. De bekomen ranges van resultaten bekomen met de verschillende EIA technieken daarentegen tonen een matige variatie en deze variatie is zeker aanvaardbaar.

De evolutie naar meer objectieve, meer gevoelige en reproduceerbare ELISA/CLIA-technieken stelt langs de andere zijde de discuteerbare empirische drempelwaarde voor positiviteit van de sinds lange tijd gebruikte agglutinatietesten (bv. TPHA/TPPA: 1/80) in vraag.

#### Niet-treponemale testen

Men moet steeds alert zijn wanneer een serumstaal positief is in de treponemale testen en negatief in de niet-treponemale testen (of omgekeerd). Bij deze kwaliteitscontrole had men 8 negatieve resultaten voor de NTT (en 5 voor de TT), dus in die gevallen moet men bedacht zijn op een eventueel prozone-fenomeen, en zou een labo steeds een aantal extra diluties moeten uitvoeren.

Wanneer men een positief resultaat heeft in zowel de TT als de NTT moet men steeds een actieve syfilis vermoeden. Maar enkel op basis van de serologie kan men nooit een onderscheid maken tussen een niet-behandelde actieve syfilis en een niet-actieve syfilis of een recent-behandelde syfilis. Wanneer de NTT en de TT beiden positief zijn, is kennis van de kliniek en anamnese evenals een evolutie van de serologie (vorige serologie-resultaten) onontbeerlijke informatie.

Voor het klinische verloop wil ik verwijzen naar een overzichtstabel in een vorig *Globaal Rapport Microbiologie 2006/1*.

Marijke Reynders, CHU Saint-Pierre, Bruxelles

## REFERENTIES

1. Is Serological Testing a Reliable Tool in Laboratory Diagnosis of Syphilis ? Meta-Analysis of Eight External Quality Control Surveys Performed by the German Infection Serology Proficiency Testing Program. Müller I et al. J Clin Microbiol 2006;44(4):1335-41
2. Review: The endemic treponematoses. Antal GM et al. Microbes and Infection 2002;4:83-94
3. Use of PCR in the diagnosis of early syphilis in the United Kingdom. Palmer HM et al. Sex Transm Infect 2003;79:479-83
4. Evaluation of an enzyme immunoassay technique for detection of antibodies against *Treponema pallidum*. Castro R et al. J Clin Microbiol 2003;41(1):250-3
5. Comparative Evaluation of Nine Different Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Determination of Antibodies against *Treponema pallidum* in Patients with Primary Syphilis. Schmidt BL et al. J Clin Microbiol 2000;38(3):1279-82
6. Dark ground microscopy and treponemal serological tests in the diagnosis of early syphilis. Wheeler HL et al. Sex Transm Infect 2004;80:411-4
7. Molecular differentiation of *Treponema pallidum* Subspecies. Centurion-Lara A et al. J Clin Microbiol 2006;44(9):3377-80
8. Early syphilitic hepatitis in an immunocompetent patient: really so uncommon ? Noto P et al. Int J STD AIDS 2008;19(1):65-6
9. Development of a Real-Time PCR Assay To Detect *Treponema pallidum* in Clinical Specimens and Assessment of the Assay's Performance by Comparison with Serological Testing. Leslie DE et al. J Clin Microbiol 2007;45(1):93-6
10. Biological Basis for Syphilis. LaFond RE and Lukehart SA. Clin Microbiol Rev 2006 ;19(1):29-49
11. Diagnosing *Treponema pallidum* in Secondary Syphilis by PCR and Immunohistochemistry. Buffet M et al. J Invest Dermatol 2007;127(10):2345-50



## 6.3. HIV

### 6.3.1 De deelnemers

In het totaal stuurden 178 laboratoria hun antwoordformulier terug: 175 Belgische en Luxemburgse en 3 buitenlandse (Frankrijk, Letland). Deze laatste 3 werden niet in de verdere verwerking opgenomen.

Onderstaande tabel geeft het aantal uitgevoerde screeningstesten per staal weer. Zes laboratoria gebruikten 2 maal dezelfde screeningstest: deze werden telkens als 1 bepaling beschouwd.

Een aantal laboratoria voerde 2 verschillende screeningstesten uit per staal.

Tabel 6.3.1. Screeningstesten uitgevoerd voor de bepaling van HIV.

Staal	1 test	2 testen	Totaal
S/6626 (N labo's)	162	13	175
S/7735 (N labo's)	151	24	175

Er werden dus 188 screeningstesten uitgevoerd op staal S/6626 en 199 op staal S/7735.

Daarnaast vermelden 10 deelnemers het resultaat van de Ag p24 test die zij bekwamen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit (bioMérieux) voor beide stalen.

Op staal S/6626 bepaalde één laboratorium het p24 Ag met de VIDAS HIV p24 II kit (bioMérieux) en voerde één laboratorium de Inno-LIA HIV Confirmation (Innogenetics) uit.

Op staal S/7735 hebben vier laboratoria het p24 Ag bepaald met de VIDAS HIV p24 II kit (bioMérieux) en één met de Murex HIV Ag Mab kit (Abbott); 2 laboratoria hebben een confirmatietest uitgevoerd met de GENELABS HIV 2.2 BLOT (Genelabs) en 2 laboratoria met de Inno-LIA HIV Confirmation (Innogenetics).

### 6.3.2 Gebruikte reagentia

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

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

Fabrikant	Reagens	S/6626	S/7535
Abbott	AxSYM HIV Ag/Ab Combo	41	41
	Architect HIV Ag/Ab Combo	32	32
	AxSYM HIV-1/2gO	8	8
	Murex HIV Ag/Ab	3	3
	PRISM HIV O Plus	2	2
	IMx HIV-1/HIV-2 III PLUS	1	1
bioMérieux	VIDAS HIV DUO ULTRA	20	25
	VIDAS HIV DUO QUICK	9	14
	Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab	3	3
BioRad	Access HIV 1/2 New op Unicel DxI 800 <sup>1</sup>	10	10
	Access HIV 1/2 New op Access <sup>1</sup>	9	9
	Genscreen HIV 1/2 version 2	1	1
Biotest	Anti-HIV Tetra Elisa	1	1
Siemans (Dade Behring)	Enzygnost HIV Integral II	4	4
	Enzygnost anti-HIV 1/2 PLUS	1	1
Inverness Medical	Determine HIV 1/2	-	1
Ortho Diagnostics	VITROS ECi anti HIV 1+2	7	7
Roche	HIV Combi	15	15
	Cobas Core anti-HIV 1/2	1	1
Siemans (Bayer)	ADVIA Centaur EHIV	20	20
Totaal		188	199

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

### 6.3.3 Resultaten

#### 6.3.3.1 Staal S/6626

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

Tabel 6.3.3. Resultaten der laboratoria voor de screeningstesten voor de bepaling van HIV op staal S/6626.

Resultaat	Aantal laboratoria
Negatief <sup>1</sup>	171
Positief	3
Error <sup>2</sup>	1
Totaal	175

<sup>1</sup> 12 van deze laboratoria bekwamen met 2 gebruikte technieken een negatief resultaat; één laboratorium bekwam een negatief resultaat met 1 kit en een error met een andere kit.

<sup>2</sup> Eén laboratorium bekwam bij herhaalde bepalingen een error op het toestel.

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

De beide "errors" werden bekomen met de Prism HIV O Plus kit. De drie vals positieve stalen werden bekomen met de Architect HIV Ag Combo kit.

De firma Abbott werd over deze beide problemen gecontacteerd.

Hun onderzoek op de Architect HIV Ag Combo kit leverde volgende resultaten op:

"The returned Correlation Sample S6626 was retested on retained samples (reagent kit stored at Abbott Laboratories) of three different Architect HIV Ag/Ab Combo Reagents, list numbers 4J27-20 and 4J27-30, lot numbers 60559HN00, 67842HN00 and 69279HN00 and came out non-reactive (60559HN00: 0.12 S/CO; 67842HN00: 0.10 S/CO; 69279HN00: 0.17 S/CO). Therefore, your observation could not be reproduced.

All reagent lots met specifications; controls showed values within typical range. The reagent kits showed normal performances without false reactive results, far away from the upper specification limit. A review of the final lot

approvals and retained sample data showed that the Negative Control and Positive Controls are comparable and well within the specification range.

As part of our investigation we have reviewed the complaint and manufacturing records for the reagent lot numbers 60559HN00, 67842HN00 and 69279HN00. This review did not identify any problems relating to your observation.

In addition, all highly sensitive immunoassay systems have a potential for nonspecific reactions due to immunological cross reactivity. The typical frequency of false-positive results with these assays has been estimated from testing of large patient populations and is stated in the package inserts (see section specific performance characteristics, Specificity on random blood donor and hospitalized patient populations). The component(s) responsible for cross-reactivity is/are unknown.

The assay performance of the ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo assay was reassessed with regards to specificity within five internal qualification projects in May 2006, August 2006, April 2007, December 2007 and February 2008. As a result, the package insert claim for specificity could be confirmed on Random Blood Donors (Serum and Plasma). The current reagent showed comparable specificity as referenced in the package insert (99.89% specificity on Serum and Plasma samples).

Based on our investigation, we have determined that the Architect HIV Ag/Ab Combo Reagents, list number 4J27-20, identified in your complaint, is performing acceptably."

Hun onderzoek op de Prism HIV O Plus kit leverde volgende resultaten op:

"We have reviewed the documented complaint information and note that two PRIMIS users observed an error code while testing of WIV correlation sample ID # 6626 with PRISM HIV O Plus list number LN 3D34, lot number unknown.

To verify the quality of our product, an internal

evaluation was performed. To address your issue - occurrence of an error code while testing of sample ID # 6626- we have performed an investigation using two different retained sample lot numbers and tested your returned sample ID# 6626:

- While testing of sample ID # 6626 error code 3X-225 occurred with 7 replicates out of 16 replicates in total for both tested retained sample lots of PRISM HIV O Plus. The residual replicates showed a non-reactive result. Per current version of the ABBOTT PRISM Operations Manual, error code 3X-225 is specific for PIB-DVS (Parallel Interface Board-Dispense Verification Sensor) "no drain end detected with sample integrity or hardware failure cited as potential causes.
- Sample ID # 6626 was received frozen and was centrifuged according to Package Insert for frozen samples (300000 gmin). After centrifugation the sample remained cloudy. Furthermore the sample contained particulate matter, which could not be removed completely after centrifugation. Therefore the occurrence of error code 3X-225 can be led back to sample integrity, since sample ID 6626 showed a cloudy consistency containing particulate matter.
- As part of our investigation we have reviewed the complaint activity and manufacturing records for PRISM HIV O Plus, list number LN 3D34, lot number(s) of used retained sample kits. This review did not identify any problems relating to your observation.

Based on this, we have determined that PRISM HIV O Plus is performing acceptably. The occurrence of error code 3X-225 is most likely correlated with the sample integrity of your returned sample ID # 6626."

De resultaten van de Ag p24 test die de laboratoria mededeelden waren allen negatief. Ook het resultaat van de Inno-Lia was negatief.

De drie laboratoria die een positief resultaat bekwamen, zouden het staal in routine doorsturen naar een

referentielaboratorium. Alle andere laboratoria zouden het staal niet doorsturen.

### 6.3.3.2 Staal S/7735

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

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

Tabel 6.3.4. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor anti-HIV antistoffen op staal S/7735 voor de meest gebruikte kits.

Kit	Aantal labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off voor positiviteit
Architect HIV Ag/Ab Combo (index S/CO)	32	121.54	15.34	227.00	≥ 1.0
AxSYM HIV Ag/Ab Combo (index S/CO)	41	16.58	11.89	24.44	≥ 1.0
AxSYM HIV-1/2g O (index S/CO)	8	16.43	14.19	17.74	≥ 1.0
VIDAS HIV DUO QUICK (index)	14	10.95	9.58	16.92	≥ 0.25
VIDAS HIV DUO ULTRA (index)	21	11.64	8.88	14.77	≥ 0.25
Access HIV 1/2 new op Access (index S/CO)	9	160.67	132.8	202.52	≥ 1.0
Access HIV 1/2 new op Unicef DxI 800 (index S/CO)	9	134.30	112.24	172.00	≥ 1.0
VITROS Eci anti HIV 1+2 (index)	6	43.9	39.4	50.4	≥ 1.0
HIV Combi (index)	15	472.8	182.3	544.00	≥ 1.0

Voor de ADVIA Centaur EHIV gaven 19 laboratoria het antwoord index >50 (cut-off voor positiviteit: ≥ 1.0)

De laboratoria die het resultaat van de Ag p24 test op de VIDAS HIV DUO ULTRA kit antwoordden, gaven het antwoord "ND" "Not Determined" weer; voor de meeste laboratoria is het duidelijk dat het antwoord "ND" betekent dat de sterke reactie voor de As de bepaling van het Ag p24 kan belemmeren en een adequate conclusie over Ag p24 onmogelijk is. Voor het laboratorium voor wie dit niet duidelijk was, herhalen wij hier dat dit antwoord niet mag

geïnterpreteerd worden als "negatief" maar dat voor het antwoorden van het Ag p24 in dergelijk geval het gebruik van een andere test vereist is; het nut van een dergelijke test bij een seropositieve patiënt is echter betwifelbaar. De resultaten van de VIDAS HIV p24 II waren allen negatief met een waarde < 3 pg/ml. Het resultaat van de Murex HIV Ag Mab was eveneens negatief. De resultaten van de GENELABS HIV 2.2 BLOT en de Innolia HIV Confirmation waren allen positief.

170 laboratoria zouden in routine het staal doorsturen naar een Aids Referentie Laboratorium. De 4 (Luxemburgse) laboratoria die dit niet zouden doen, zijn laboratoria die zelf de confirmatietesten uitgevoerd hebben of vermelden zelf ARL te zijn. Eén laboratorium liet het antwoord op deze vraag open

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

Het is geruststellend vast te stellen dat het positieve staal S/7735 door alle laboratoria gedetecteerd werd. De kwantitatieve gegevens die nuttig zouden kunnen zijn om een falen van de detectie door sommige kits te verklaren, hebben in het huidige geval dus weinig belang.

Voor de Vidas HIV Duo Ultra kit die afzonderlijke resultaten oplevert voor het antigen en de antistoffen, is het belangrijk om te herhalen dat bij personen die antistoffen hebben, het resultaat van het antigen meestal niet doorgegeven wordt omdat het niet gemeten wordt. Het voordeel van deze test komt vooral tot uiting als enkel de Ag-detectie positief is. Dit kan een aanduiding zijn van een spoedige seroconversie, die één der volgende dagen zal optreden. De detectie van het antigen (Ag p24 genaamd) op zich is momenteel van gering belang.

Staal S/6626 was negatief en werd vals positief bevonden door enkele gebruikers van de Architect HIV Ag Combo. Het is belangrijk om te herhalen dat een externe kwaliteitscontrole met slechts 2 stalen tot doel heeft de routinepraktijk van het laboratorium te evalueren en niet toelaat om de specificiteit of gevoeligheid van een welbepaalde kit te evalueren.

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

## 6.4. RSV antige

### 6.4.1. De deelnemers

In het totaal stuurden 104 laboratoria hun antwoordformulier terug. 88 laboratoria voerden 1 test uit op het staal, 14 laboratoria 2 testen en 2 laboratoria 3 testen. In totaal werden dus 122 testen uitgevoerd.

### 6.4.2. Gebruikte reagentia

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

Tabel 6.4.1. Reagentia gebruikt voor de bepaling van het RSV antige (staal S/8909).

Fabrikant	Reagens	S/8909
Becton Dickinson	Directigen EZ RSV test kit	17
bioMérieux	RSV Direct IF (ID)	12
	RSV Test QuickVue	1
Coris Bioconcept	RSV Respi-strip	43
Inverness medical	BinaxNOW RSV	17
	Clearview RSV	3
Meridian	ImmunoCard STAT! RSV Plus	6
	Tru RSV	6
Millipore	Simulfluor Respiratory Screen	8
	Respiratory Syncytial Virus (RSV) DFA	3
Novamed	RSV stick	4
Novolab	RSV Check 1	1
Oxoid	Imagen Respiratory Screen	1
Totaal		122



### 6.4.3. Resultaten

Onderstaande tabel geeft de resultaten per laboratorium weer voor deze enquête. Laboratoria die meer dan 1 kit gebruikten, bekwamen met alle kits hetzelfde (positieve) resultaat. De drie borderline resultaten werden bekomen met 3 verschillende kits (waarmee andere gebruikers positieve resultaten bekwamen).

Tabel 6.4.2. Resultaten voor de bepaling van het RSV antigeen (staal S/8909).

Resultaat	Aantal laboratoria
Positief	101
Borderline	3
Totaal	104

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

Het is de eerste keer dat een staal werd rondgestuurd voor de detectie van respiratoir syncytieel virus (RSV) antigeen. Staal S/8909 bestond uit de bovenstaande vloeistof van een sterk RSV positieve kweek op Vero-cellen verdund in viraal transport medium. Het opgestuurde staal veroorzaakte op Vero-cellen typische syncytia. RT-PCR toonde aan dat het een RSV subgroep B virus betrof.

Voor de detectie van RSV in respiratoire stalen zijn meerdere technieken beschikbaar. De klassieke detectiemethode is isolatie van het virus op celcultuur. Het virus ontleent zijn nieuwe naam aan het feit dat het in celculturen celfusie induceert en dus aanleiding geeft tot een karakteristiek cytopathogeen effect. Nadeel van kweek is de lange antwoordtijd (dagen tot meer dan een week). Het virus is daarenboven zeer gevoelig voor verandering in pH, temperatuur en luchtvochtigheid. Strikte controle van de pre-analytische fase is dus belangrijk voor cultuur van RSV. Omwille van deze nadelen genieten antigeendetectietechnieken tegenwoordig de voorkeur op virale isolatie op celcultuur. De meeste laboratoria maken gebruik van sneltesten waarbij antistoffen op een membraan gebonden zijn. Daarnaast beschikken we ook over immunofluorescentietesten. Een voordeel van de immunofluorescentietesten ten opzichte van vele andere technieken ligt in het feit dat de kwaliteit van het staal (al dan niet aanwezigheid van epitheliale cellen) kan geëvalueerd worden. Microscopische

evaluatie van de preparaten vereist echter goed getraind laboratoriumpersoneel. De sensitiviteit en specificiteit van sneltesten voor de detectie van RSV zijn algemeen goed voor de detectie van primo-infecties bij kinderen<sup>1</sup>. Het staaltype is van belang en kan de performantiekarakteristieken van de snelle Ag-detectietechnieken doen variëren. Het "ideale" monstertype is een nasopharynxaspiraats, maar een goed afgenomen nasopharyngeale wisser geeft eveneens voldoende resultaten<sup>8</sup>.

De resultaten gerapporteerd door de deelnemers in deze enquête waren uitstekend. Geen enkele deelnemer bekwam een negatief resultaat. Drie deelnemers rapporteerden een borderline resultaat. Het betrof drie verschillende testkits en alle andere deelnemers die de betreffende testkits gebruiken rapporteerden wel een positief resultaat.

Het is belangrijk om rekening te houden met het feit dat de sensitiviteit van antigeendetectietechnieken veel minder goed is voor het opsporen van RSV infecties bij volwassenen<sup>2,3</sup>. Dit is waarschijnlijk te wijten aan een combinatie van factoren waaronder een kortere 'shedding' fase en lagere virale titers bij herinfecties in vergelijking met primo-infecties. In deze populatie geniet RT-PCR duidelijk de voorkeur voor de diagnose van een RSV infectie. Verschillende studies toonden een betere sensitiviteit aan voor RT-PCR in vergelijking met virale cultuur en antigeendetectie<sup>4,5,6</sup>.

RSV behoort tot de familie Paramyxoviridae, genus *Pneumovirus*. Het nauw verwante en qua symptomatologie vergelijkbare humaan metapneumovirus behoort tot het genus *Metapneumovirus*, maar dit virus geeft minder duidelijk herkenbare cytopathogene effecten in de virale celweek. Het RSV is een enkelstrengs RNA-virus van 120-300 nm grootte met een lipidemembraan. Het genoom bevat tien genen die elk coderen voor een eiwit. RSV-infecties zijn seizoensgebonden, komen elke winter voor met een goed voorspelbare epidemische piek welke steeds in de maand december valt. Er bestaan twee majeure antigenen groepen (A en B) en virussen van beide subgroepen kunnen co-circuleren gedurende epidemieën hoewel hun frequenties kunnen variëren tussen seizoenen. In een studie waarin de subgroep prevalentie en genotype distributie werd bestudeerd in België gedurende 10 tien opeenvolgende (1996 tot 2006) epidemische seizoenen werd een 3-jarig cyclisch patroon van subgroep dominantie vastgesteld, bestaande uit twee dominante RSV-A seizoenen, opgevolgd door één RSV-B dominant jaar<sup>7</sup>.

Het RSV dringt het lichaam binnen via de mucosa van neus en keel. Het virus vermeerdert zich in de nasopharynx en kan zich snel verspreiden

naar bronchi, bronchioli en alveoli. Primaire infectie met RSV treedt meestal al op in het eerste levensjaar. RSV is het enige respiratoire micro-organisme dat bij zuigelingen (van zes weken tot zes maanden) ziekte veroorzaakt ondanks hoge titers maternale antistoffen. De symptomen kunnen variëren van een milde bovenste luchtweginfectie, waarbij hoesten op de voorgrond staat, tot een ernstige bronchiolitis of pneumonie. Bij circa 1% van de primaire infecties is ziekenhuisopname noodzakelijk vanwege ernstige dyspnoe, cyanose of voedingsproblemen. Herinfecties komen veelvuldig voor, soms zelfs jaarlijks. Deze herinfecties hebben op de kinderleeftijd over het algemeen een milder beloop dan de primaire infectie en leiden dan tot een bovenste luchtweginfectie of een tracheobronchitis. Een pneumonie is echter niet uitgesloten. RSV-infectie leidt bij kinderen ook vaak tot otitis media. Op volwassen leeftijd blijven de symptomen vaak beperkt tot een bovenste luchtweginfectie of is er sprake van asymptomatisch beloop. Op oudere leeftijd neemt de kans op het ontwikkelen van een pneumonie weer toe alsook bij immuungecompromitteerde patiënten.

## REFERENTIES

1. Selvarangan R, Abel D, Hamilton M. Comparison of BD Directigen EZ RSV and Binax NOW RSV tests for rapid detection of respiratory syncytial virus from nasopharyngeal aspirates in a pediatric population. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008, 62: 157-61.
2. Mlinaric-Galinovic G, Falsey AR, Walsh EE. Respiratory syncytial virus infection in the elderly. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996, 15: 777-81.
3. Casiano-Colon AE, Hulbert BB, Mayer TK, Walsh EE, Falsey AR. Lack of sensitivity of rapid antigen tests for the diagnosis of respiratory syncytial virus infection in adults. *J Clin Virol* 2003, 28: 169-74.
4. Bonroy C, Vankeerberghen A, Boel A, De Beenhouwer H. Use of a multiplex real-time PCR to study the incidence of human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus infections during two winter seasons in a Belgian paediatric hospital. *Clin Microbiol Infect* 2007, 13: 504-9.
5. Liao RS, Tomalty LL, Majury A, Zoutman DE. A comparison of viral isolation and multiplex real-time reverse transcription-PCR for the confirmation of respiratory syncytial virus and influenza viruses detected by antigen immunoassay testing. *J Clin Microbiol* 2009, Jan 7, Epub ahead of print.
6. Van Elden LJ, van Loon AM, van der Beek A, Hendriksen KA, Hoepelman AI, van Kraaij MG, Schipper P, Nijhuis M. Applicability of a real-time quantitative PCR assay for diagnosis of respiratory syncytial virus infection in immunocompromised adults. *J Clin Microbiol* 2009, 41: 4379-81.
7. Zlateva KT, Vijgen L, Dekeersmaecker N, Naranjo C, Van Ranst M. Subgroup prevalence and genotype circulation patterns of human respiratory syncytial virus in Belgium during ten successive epidemic seasons. *J Clin Microbiol* 2007, 45: 3022-30.
8. Loens K, Van Heirstraeten L, Malhorta-Kumar S, Goossens H, Ieven M. Minireview: Optimal Sampling Sites and Methods for Detection of Pathogens Possibly Causing Community- Acquired Lower Respiratory Tract Infection. *J Clin Microbiol* 2009, 47(1):21-31.