

**FEDERALE OVERHEIDSDIENST, VOLKSGEZONDHEID, VEILIGHEID
VAN DE VOEDSELKETEN EN LEEFMILIEU**

COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE

**DIENST VOOR LABORATORIA VAN KLINISCHE BIOLOGIE
COMITE VAN DESKUNDIGEN**

GLOBAL RAPPORT

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE VOOR
ANALYSEN KLINISCHE BIOLOGIE**

MICRO/SERO/PARA

ENQUETE 2011/02

DIT RAPPORT WORDT NIET MEER VERSTUURD MET DE POST

Microbiologie

Enterobacter gergoviae
Enterococcus faecium
Escherichia coli
Listeria monocytogenes

Parasitologie

Cryptosporidium parvum
Cyclospora cayetanensis

Serologie

EBV
Rubella
Legionella Ag

WIV-11/02/Micro/Sero/Para/84

Dienst Klinische Biologie
J. Wytsmanstraat, 14
1050 Brussel | België

www.wiv-isp.be

COMITE VAN EXPERTEN VOOR MICRO/SERO/PARA

WIV (secretariaat)	:	02/642.55.22 – FAX : 02/642.56.45
(Dr. VERNELEN K.)	:	02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45
(Coördinator)	:	e-mail : kris.vernelen@wiv-isp.be
Apr. BOEL An	:	053/72.47.85 - FAX : 053/72.45.88
	:	e-mail : an.boel@olvz-aalst.be
Dr. CLAEYS Geert	:	09/332.36.45 – FAX : 09/332.49.85
	:	e-mail : geert.claeys@ugent.be
Dr. DE BEENHOUWER Hans	:	053/72.42.72 – FAX : 053/72.45.88
	:	e-mail : hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be
Dr. DE GHELDRE Yves	:	02/340.41.34 – FAX : 02/340.41.79
	:	e-mail : yves.degheldre@chirec.be
Dr. DEDISTE Anne	:	02/535.45.42
	:	e-mail : anne_dediste@stpierre-bru.be
Dr. DELFORGE Marie-Luce	:	02/555.34.53 – FAX : 02/555.64.59
	:	e-mail : mdelforg@ulb.ac.be
Dr. LAGROU Katrien	:	016/34.70.98 – FAX : 016/34.79.31
	:	e-mail : katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be
Apr. LONTIE Marc	:	016/31.01.72 – FAX : 016/31.01.88
	:	e-mail : marc.lontie@mchlvwo.be
Dr. MAGERMAN Koen	:	011/30.97.40 – FAX : 011/30.97.50
	:	e-mail : koen.magerman@jessazh.be
Dr. NAESSENS Anne	:	02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15
	:	e-mail : anne.naessens@uzbrussel.be
Dr. PADALKO Elizaveta	:	09/332.21.08 – FAX : 09/332.49.85
	:	e-mail : elizaveta.padalko@uzgent.be
Dr. REYNDERS Marijke	:	050/45.39.27 – FAX : 050/45.26.19
	:	e-mail : marijke.reynders@azsintjan.be
Dr. VAN ESBROECK Marjan	:	03/247.64.37 – FAX : 03/247.64.40
	:	e-mail : mvesbroeck@itg.be
Dr. VERHAEGEN Jan	:	016/34.70.73 – FAX : 016/34.79.31
	:	e-mail : jan.verhaegen@uz.kuleuven.ac.be
Dr. WOESTYN Sophie	:	056/85.58.85 – FAX : 056/85.58.86
	:	e-mail : sophie.woestyn@skynet.be

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_nl/rapports_annee.htm

I. Algemene bemerkingen

Voor de 2^e evaluatie van het jaar 2011 (enquête 2011/2) werd volgend materiaal verzonden op 18 april 2011.

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 Twee plasmamonsters voor de serologie van **Rubella** en **EBV** en **2 urinestalen** voor de bepaling van het **Legionella Ag**.

AANTAL LABORATORIA DEELNEMERS

Het Aantal laboratoria evalueerbare antwoordbulletins bedroeg:

1. Voor identificatie en antibiogram:	170
2. Voor parasitologie:	163
3. Voor de sérologie	
Rubella:	153
EBV:	154
Legionella Ag :	79

Alle stalen gebruikt in de EKE zijn voorafgaandelijk goedgekeurd door de leden van de onderscheiden expertencomités.

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

U kan de overzichten van alle stalen die in de verschillende enquêtes verzonden werden terugvinden op onze website op volgende pagina's:

Bacteriologie:

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/nl/microbiologie.htm
en vervolgens klikt u onder "Codes" op "Overzicht verstuurde kiemen"

Parasitologie:

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/nl/parasitologie.htm
en vervolgens klikt u onder "Codes" op "Overzicht verstuurde parasieten"

Infectieuze serologie:

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/nl/inf_serologie.htm
en vervolgens klikt u op "Lijst van de geëvalueerde parameters"

II. Identificaties

2.1. Cultuur M/5383 *Enterobacter gergoviae*

Biologie en voorkomen

Enterobacter gergoviae is in het klinisch labo een weinig frequente species, behorend tot het genus *Enterobacter*. Het is een omgevingsbacterie die gevonden wordt in aarde en water, die maïswortels kan koloniseren en die als klinisch isolaat werd gevonden in urine, respiratoire monsters, abscessen en bloedkweken. In een heel recent artikel is het probleem beschreven van nosocomiale infecties in een pediatrische eenheid in Kroatië: de risicofactoren waren de klassieke factoren maar heel ongewoon was dat *E. gergoviae* daar veel frequenter was dan *E. aerogenes*. In een rapport uit Maleisië is een uitbraak met *Enterobacter gergoviae* beschreven met een contameneerde parenterale oplossing als bron.

Identificatie

Voor de identificatiekenmerken verwijzen we naar de klassieke kennisbronnen hieromtrent. Zowel met klassieke, 'manuele' microbiologische systemen, als met commerciële galerijen en uiteraard 'Malditoff' is de species gemakkelijk te identificeren, wat geïllustreerd wordt met de goede scores van de deelnemende labo's.

Gevoeligheid voor antibiotica.

Dit species bevat zoals de meeste andere *Enterobacter* soorten, een chromosomaal (amp-C-like, dus met cefalosporinase activiteit, en clavulaanzuur resistent) β -lactamase, dat kan up-gereguleerd worden en ook aanleiding kan geven tot een hyperproducerende stam. Gezien de kenmerken van ESBLs (aanwezig op zeer mobiele genetische elementen) is het niet verwonderlijk dat ook deze resistentie reeds bij dit species is beschreven. De soort is van nature ook gevoelig aan heel wat klassieke antibiotica uit de niet- β -lactam-klassen, maar verworven resistentie is niet zeldzaam.

Geert Claeys, UZ Gent

Referenties

1. Grimont F, Grimont PAD. The genus *Enterobacter*. In: BalowsA, TrüperHG, DworkinM, HarderW, SchleiferKH. eds. *The Prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications* New York: Springer-Verlag, 1992: 2797–815.
2. Chen KJ, Yang KJ, Sun CC, Yeung L. *Traumatic endophthalmitis caused by Enterococcus raffinosus and Enterobacter gergoviae*. *J Med Microbiol*. 2009 Apr;58(Pt 4):526-8.
3. Cheng, Y. & Chen, M. (1994). *Extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of Enterobacter gergoviae and Escherichia coli in China*. *Antimicrob Agents Chemother* 38, 2838–2842
4. J.Verhaegen, J.Vandeven, M.Pyckavet. *Medische microbiologie voor laboratoriumtechnologen*. Acco, Leuven.
5. Stock, I. & Wiedemann, B. (2002). *Natural antibiotic susceptibility of Enterobacter amnigenus, Enterobacter cancerogenus, Enterobacter gergoviae and Enterobacter sakazakii strains*. *Clin Microbiol Infect* 8, 564–578.
6. Nataša Boban, Ana Jerončić, Volga Punda-Polić *Outbreak of nosocomial bacteremias, caused by Enterobacter gergoviae and Enterobacter aerogenes, in the neonatal intensive care unit, case - control study* SIGNA VITAE 2011; 6(1): 27 – 32.
7. Ganeswire R; Thong KL; Puthuchear SD *Nosocomial outbreak of Enterobacter gergoviae bacteraemia in a neonatal intensive care unit* . *JOURNAL OF HOSPITAL INFECTION* 2003. 53, 292-296.

2.2. Cultuur M/10848 *Enterococcus faecium*

Door onvoorziene omstandigheden was de tekst over *Enterococcus faecium* nog niet ter beschikking bij het finaliseren van het globaal rapport.

Hij zal opgenomen worden als bijlage in een volgende globaal rapport.

Onze excuses hiervoor.

2.3. Cultuur M/11025 *Escherichia coli*

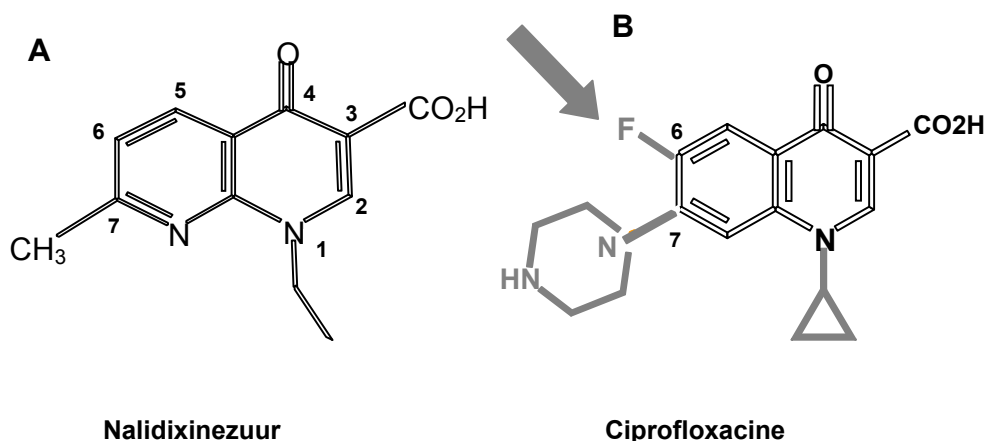
Staal M/11025 was een *Escherichia coli* met als bijzonder kenmerk resistentie tegen de fluoroquinolones maar gevoeligheid voor de β -lactams en cotrimoxazole. Daarenboven was de stam resistent tegen nitrofurantoïne.

Hoewel het werkingsmechanisme en de resistentiemechanismen van bacteriën tegen fluoroquinolones (cf. infra) specifiek zijn en niet verbonden met deze van andere antibioticaklassen, is co-resistentie tegen verschillende antibioticaklassen (waaronder de penicillines en de cefalosporines, cotrimoxazole, de tetracyclines en soms ook de aminoglycosiden) vaak geassocieerd aan resistentie tegen chinolones. Dit kan enerzijds verklaard worden door herhaalde blootstelling van patiënten aan meerdere antibioticakuren en anderzijds door de associatie binnen éénzelfde bacterie van verschillende resistentiegenen die gecolocaliseerd zijn op gemeenschappelijke genetische structuren (integrans) en overgebracht worden via multiële mobiele elementen (transposons, plasmiden,...).

Chinolones zijn volledig synthetische antibacteriële middelen. De eerste molecule, nalidixinezuur, werd ontdekt in 1962. Al deze moleculen bevatten een pyridinerings (met een stikstofkern die op diverse wijzen gesubstitueerd kan zijn, een ketonfunctie ($-C=O$) op positie 4 en een carboxylgroep ($-COOH$) op positie 3. Deze ring is gebonden aan een andere variabele aromatische ring (benzeen, pyridine of pyrimidine) (cf. Figuur 1).

De eerste fluoroquinolones (oxolinezuur, pipemidinezuur) waren engspectrum antibiotica (enterobacteriaceae) met een farmacokinetiek die enkel gebruik in onverwikelde urineweginfecties toeliet (kort half-leven en onvoldoende hoge weefselconcentraties tenzij in de urine). Begin van de jaren '80 zijn de fluoroquinolones (norfloxacine, ciprofloxacine, ofloxacine) verschenen. Deze stoffen vertonen een gemeenschappelijke structuur met een fluoratoom op positie 6 en een stikstofdragende ring (piperazine) op positie 7.

Fig. 1. Vergelijking van de structuur van nalidixinezuur (A) en ciprofloxacine (B)



Deze chemische kenmerken verlenen deze moleculen een verhoogde intrinsieke activiteit tegen enterobacteriaceae en een verbreding van het spectrum: tegen stafylokokken (niet de methicilline-resistente stammen) en *Pseudomonas aeruginosa* (ongeveer 1/4 tot 1/3 van de stammen zijn tegenwoordig echter resistent). De gunstigere farmacologische kenmerken van deze stoffen (verlenging van de half-waarde tijd, evenwaardige biologische beschikbaarheid bij toediening langs orale en intraveneuze

weg) hebben de klinische indicaties uitgebreid (verwikkelde urogenitale infecties (b.v. : prostatitis), osteo-articulaire infecties, pulmonale infecties door *Pseudomonas*). Bovendien heeft de ontwikkeling van nieuwe moleculen op het einde van de jaren 90 (levofloxacin) en het begin van de jaren 2000 (moxifloxacin) geleid tot een nieuwe uitbreiding van de indicaties voor gebruik van fluorochinolones, voornamelijk in geval van respiratoire infecties, met name dankzij een toegenomen activiteit tegen streptokokken, pneumokokken, anaëroben, mycoplasmata en *Legionella*) zonder opmerkelijke wijziging van hun activiteit tegen enterobacteriaceae en andere Gram negatieve bacteriën.

Werkingsmechanisme en resistentiemechanismen

De chinolones interageren met het DNA gyrase en het topoisomerase IV, enzymen die betrokken zijn in de structurele opbouw (supercoiling en ontrolling van het DNA) van de bacteriële chromosomen tijdens de replicatie en transcriptie. Deze interactie leidt tot de vorming van een ternair complex door een stabiele covalente binding (chinolone-DNA-DNA gyrase) en een irreversibele inhibitie van de enzymatische activiteit gevolgd door fragmentatie van het DNA en celdood van de bacteriën. Resistentie tegen fluorochinolones ontwikkelt zich door het verschijnen van mutaties in de regio's die coderen voor de 2 subeenheden van het DNA gyrase (*gyrA* en *gyrB*) en in de domeinen die coderen voor het DNA topoisomerase IV (*parC*). De accumulatie van verschillende mutaties in één of meer van deze genen vermindert de affiniteit van de chinolones voor hun target en verhoogt stapsgewijze de MIC-waarde (stepwise resistance). Een low-level resistentie tegen fluorochinolones kan ook ontstaan ten gevolge van structurele of kwantitatieve wijzigingen in sommige porines (OmpF) van de buitenmembraan of nog door overexpressie van membraanpomp met actieve efflux. Deze wijzigingen leiden tot een vermindering van de intra-cytoplasmatische concentratie van chinolones hetzij door de vermindering van de membraanpermeabiliteit hetzij door toename van de actieve efflux. Gedurende de laatste jaren werden verschillende mechanismen van transfereerbare plasmidair resistentie geïdentificeerd, met name: de aanwezigheid van kleine proteïnen met herhaalde pentapeptidische sequenties (Qnr) die het DNA gyrase beschermt tegen de binding van chinolones, het enzyme AAC6'-Ib-cr, dat bepaalde fluorochinolones (ciprofloxacin, norfloxacin) inactieveert door acetylatie van de piperazinekern, en de effluxpomp QepA die chinolones met hydrofiele structuur (ciprofloxacin, norfloxacin) uit de bacterie pompt. Het verschijnen van deze plasmidair resistentiemechanismen vormt een bron van bezorgdheid gezien hun transfereerbare aard en hun frequente associatie met andere resistentiemechanismen met name met verschillende types van ESBL (SHV, CTX-M) of cefalosporinases (van de types CMY of FOX) die de derde en vierde generatie cefalosporines inactiveren.

Epidemiologie van de chinolone-resistentie

Vele studies maken melding van een wereldwijde progressieve toename van de resistentie tegen chinolones bij *Escherichia coli* gedurende de twee laatste decennia. In Europa, tonen de gegevens van het Europese surveillanceprogramma EARS-Net (dat door de ECDC gecoördineerd wordt) aan dat een stijging van de resistentie tegen chinolones opgemerkt wordt bij *E. coli* in de meeste landen sinds het begin van de jaren 2000. Zo is in België het percentage invasieve chinolone-resistente *E. coli* stammen (geïsoleerd uit positieve hemoculturen) gestegen van 8.9% in 2001 tot 20% in 2009. Deze statistieken zijn een duidelijke weergave van het belangrijke verbruik van deze antibioticaklasse in humane geneeskunde (maar ook in het diergeneeskundige milieu en in de agro-alimentaire sectoren). Het verhoogde resistentieniveau tegen chinolones (20%) dat momenteel bij *E. coli* vastgesteld wordt zowel in de huisartsgeneeskunde als in hospitaalomgeving is een contra-indicatie voor het empirisch gebruik van deze

antibioticaklasse in de 1^e lijn, in het bijzonder bij patiënten die recent behandeld werden met chinolones (cf. Aanbevelingen van de Belgische Sanford gids, Editie 2010/2011).

In vitro gevoeligheidsstudies in het laboratorium

Onderstaande Tabel 1 geeft de antibiotica weer die voor enterobacteriaceae uitgetest moeten worden met de aanbevolen kritische concentraties volgens EUCAST in Europa en CLSI in de Verenigde Staten. Het staat vast dat een high level resistentie tegen nalidixinezuur de « vertaling » is van de aanwezigheid van een eerste gyrA mutatie en dat deze in de meeste gevallen geassocieerd is aan een daling van de gevoeligheid voor alle fluorochinolones. Nochtans laat een resistentie tegen nalidixinezuur niet toe om de exacte aard van het resistentiemechanisme te bepalen (meer bepaald om een onderscheid te maken tussen de resistentie door chromosomale mutatie en plasmidaire resistentie of door vermindering van de intracellulaire concentratie (efflux of membranaire impermeabiliteit)). Bovendien, vermits nalidixinezuur niet meer gebruikt wordt in de kliniek, lijkt het niet meer aangewezen dit nog te rapporteren in het antibiogram.

Norfloxacin zou enkel voor urinaire isolaten getest mogen worden want dit antibioticum wordt enkel gebruikt in de behandeling van onverwikkelde urineweginfecties. De keuze tussen ciprofloxacin en levofloxacin zou gebaseerd moeten worden op lokale overwegingen (prijs van de behandeling, neveneffecten); het is niet nodig deze twee moleculen te testen want hun intrinsieke activiteit is gelijkaardig op enterobacteriaceae en er is meestal kruisresistentie. Het is niet nodig om in routine de activiteit van moxifloxacin tegen enterobacteriaceae te testen want het gebruik van dit antibioticum is hoofdzakelijk beperkt tot de behandeling van community acquired pneumonieën bij patiënten die allergisch zijn aan penicilline. Moxifloxacin biedt ten andere geen enkel voordeel in antibacteriële werking tegen Gram negatieve bacteriën en is duidelijk duurder dan de andere fluorochinolones.

Tabel 1. Drempelwaarden en kritische concentraties van chinolones voor Enterobacteriaceae

Chinolone	EUCAST (2011)	CLSI (2011)
Norfloxacin	S ≤ 0.5 / R > 1 (≥ 2)	S ≤ 4 / R ≥ 16
Ofloxacin	S ≤ 0.5 / R > 1 (≥ 2)	S ≤ 2 / R ≥ 8
Ciprofloxacin	S ≤ 0.5 / R > 1 (≥ 2)	S ≤ 1 / R ≥ 4
Levofloxacin	S ≤ 1 / R > 2 (≥ 4)	S ≤ 2 / R ≥ 8
Moxifloxacin	S ≤ 0.5 / R > 1 (≥ 2)	-

Y. Glupczynski (UCL Mont-Godinne)

2.4. Cultuur M/11028 *Listeria monocytogenes* (hemocultuur)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: “*Hemocultuur van een 75-jarige man met een ethylverleden en levercirrose. Opname voor hartklachten; 's nachts 38.5°C en verward waarbij hemoculturen (3 flessen) werden afgenomen. Na 20u is één aerobe hemocultuurfles positief. Identificatie tot op het species niveau is vereist.*”

De identificatie van de aanwezige *Listeria* leverde geen noemenswaardige problemen op: 161 (94.7 %) van de deelnemende labo's hebben deze kiem teruggevonden en correct geïdentificeerd. Voor verdere informatie rond *L. monocytogenes* verwijzen we terug naar het commentaar van de EKE enquête 2007/3, staal M/6151 (p. 2-4) (https://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/download/microbiologie/2007/07-3N-MICROBIO.pdf).

De moeilijkheid van deze opdracht echter was de interpretatie. Bij de klinische inlichtingen stond vermeld dat er slechts één fles positief geworden was - dit is niet ongewoon bij een *L. monocytogenes* sepsis - maar bovendien was er een coagulase negatieve stafylokok (CNS) toegevoegd.

L. monocytogenes in een hemocultuur is steeds significant. In deze casus is de kans dat de CNS ook een rol speelt in het actuele ziekteproces van de patiënt dus bijzonder klein en is de kiem dus hoogstwaarschijnlijk een contaminant. Daartegenover staat dat het goed geweten is dat CNS soms, zelfs als deze niet in alle flessen voorkomen, een klinisch probleem in het licht kunnen stellen.

Er is bij de laboratoria een grote diversiteit te vinden in de manier van rapportering wanneer er mogelijk “contaminanten” (CNS, corynebacteriën, microkokken, viridans streptokokken, ...²) in het spel zijn.

Dat komt ook duidelijk naar voor wanneer de resultaten van deze zending worden overlopen: 114 labo's hebben enkel *L. monocytogenes* geantwoord en zullen de CNS zelfs niet vermelden. Anderzijds zijn er bij de 47 labo's die beide kiemen vermelden 16 centra die de aanwezigheid van de CNS zonder enige commentaar doorgeven en dus beide kiemen identiek rapporteren!

Belangrijk is dat het labo een 'policy' heeft om met dergelijke resultaten om te gaan: niet elk resultaat heeft hetzelfde gewicht. In de post-analytische fase zal de klinisch bioloog dit op individuele basis interpreteren en er zorg voor dragen dat dit op een klare en correcte manier gerapporteerd wordt. Contact met de clinicus zou bij elke klinisch relevante positieve hemocultuur een normale reflex moeten zijn vermits het hier een 'alarmwaarde in de microbiologie' betreft. Met de klinische gegevens kan dan op een meer gefundeerde basis een besluit worden genomen. Dit is in het belang van de patiënt (minder onnodige onderzoeken en therapie) én in het belang van het labo (minder doorgedreven identificaties en antibiogramen).

Enkele suggesties voor de interpretatie in geval van mogelijk contaminanten:

- Zorg ervoor dat men in de procedure van 'afname hemoculturen' steeds minstens twee puncties doet met een finaal volume van minstens 30 ml. Weet hoe de afname verlopen is: wie heeft geprikt, op welke wijze werd er geprikt (perifeer, via centrale katheter, rechtstreeks in de flessen of via spuit...), zijn er meerdere venepuncties uitgevoerd? Het helpt wanneer het aanvraagformulier al in die context geconcipteerd is geworden. Vraag steeds dat men de flessen correct labelt bij afname zodat de juiste paren kunnen worden samengesteld. Indien de flessen niet adequaat gelabeld zijn vermeld dit dan bij pre-analytische opmerkingen: dit kan belangrijk zijn bij de interpretatie.
- Het aantal positieve flessen met eenzelfde isolaat is het belangrijkste criterium. Bij kiemen die als mogelijke contaminant gecatalogeerd staan wordt algemeen aangenomen "één is geen".
- Wanneer meerdere flessen positief zijn met een mogelijke contaminant kan het helpen om de "time to positivity" na te kijken (hoe homogener de tijden van verschillende positieve flessen hoe meer kans op significantie) en om een antibiogram uit te voeren op isolaten uit verschillende flessen en deze onderling te vergelijken: majeure verschillen tussen de antibiogrammen vergroten de kans dat het contaminatie betreft.
- Vermeld bij elke kiem waar er twijfel bestaat rond de significantie een opmerking in de zin van: "contaminatie bij afname kan niet worden uitgesloten" en **geef GEEN antibiogrammen door** zolang er geen zekerheid bestaat dat de kiem significant is: "*not reporting these data on probable contaminants promotes good patient care*"³

Het is misschien goed hier nog op te merken dat het percentage 'contaminanten' in de setting van hemoculturen in een ziekenhuislabo als *key performance indicator* (met als streefwaarde: $\leq 3\%$) moet opgevolgd worden. Er bestaat trouwens veel literatuur over hoe het contaminatiepercentage naar beneden kan gehaald worden.

Hans De Beenhouwer
OLVZ-Aalst

Referentias

1. CLSI. Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline. CLSI document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2007.
2. Cumitech 1C Blood Cultures IV Baron E. J. et al., 2005. ASM Press, Washington, D.C
3. Improving the Clinical Utility of Microbiology Data: An update Joan Barenfanger. Clin Microbiol Newsletter 2003 ; 25 :(1) 1-8
4. Blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: antiseptis, pseudobacteremia, and therapy of patients. Souvenir, D., et al., J. Clin. Microbiol. 1998; 36:1923-1926
5. Quality assurances:
Decreasing clinically irrelevant testing from clinical microbiology laboratories, part I Joan Barenfanger. Clin Microbiol Newsletter 2006 ; 28 :(3) 17-24
6. Updated Review of Blood Culture Contamination Keri K. Hall, Jason A. Lyman Clin Microbiol Rev. 2006; 19(4) : 788-802
7. Minimizing the Workup of Blood Culture Contaminants: Implementation and Evaluation of a Laboratory-Based Algorithm S. Richter, et al., J Clin Microbiol. 2002;40(7) : 2437-44
8. Doing it right the first time : Quality improvement and the contaminant blood culture F. Weinbaum et al. J Clin Microbiol. 1996; 35(3) : 563-65
9. Innovation for reducing blood culture contamination: initial specimen diversion technique. Patton RG, Schmitt T. J Clin Microbiol. 2010; 48(12) : 4501-3

III. Resultaten van de identificaties

173 laboratoria hebben een antwoord ingestuurd. Naast 170 Belgische en Luxemburgse waren dit 2 buitenlandse en een firmalaboratorium. Deze laatste 3 werden niet in de verwerking der resultaten opgenomen.

De correcte of aanvaardbare resultaten zijn onderlijnd.

3.1. Cultuur M/5383 *Enterobacter gergoviae* (urine)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Urinestaal afgenomen bij een vrouw van 77 jaar die sinds enkele dagen klachten heeft van een urineweginfectie. Rechtstreeks urine-onderzoek: pyurie +++, bacteriën +++. Identificatie tot op het speciesniveau is vereist."

<u><i>Enterobacter gergoviae</i></u>	163	95.9%
<i>Enterobacter gergoviae</i> + <i>Escherichia coli</i>	1	
<i>Enterobacter asburiae</i>	1	
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	
<i>Enterobacter</i> species	1	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	
<i>Serratia marcescens</i>	1	

Overzicht van de antwoorden op de vraag of dit staal in routine doorgestuurd zou worden:

	Antw<oord	N labos
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram		4
Wordt niet doorgestuurd		164
Geen antwoord op de vraag		2
Totaal		170

3.2. Cultuur M/10848 *Enterococcus faecium* (hemocultuur)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Hemocultuur van een 55-jarige man: 6 flesjes positief. Identificatie tot op het speciesniveau is vereist."

<i>Enterococcus faecium</i>	158	92.9%
<i>Enterococcus gallinarum</i>	4	
<i>Enterococcus caseliflavus</i>	2	
<i>Enterococcus gallinarum</i> of <i>caseliflavus</i>	1	
<i>Enterococcus</i> species	3	
Gram positieve kokken	1	
Wordt niet ambulant uitgevoerd; dergelijk stalen worden uitbesteed aan een hospitaal	1	

Negentien laboratoria die *E. faecium* antwoorden, vermelden expliciet dat het VRE betreft; 13 van deze 19 vermelden de aanwezigheid van het Van B gen.

Eén laboratorium dat *Enterococcus* species antwoordt, vermeldt eveneens expliciet dat het VRE betreft.

Overzicht van de antwoorden op de vraag of dit staal in routine doorgestuurd zou worden:

Antwoord	N labos
Epidemiologische redenen	31
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram ¹	50
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram ²	35
Het laboratorium dat "Gram positieve kokken" geantwoord heeft	1
Reden van doorstuur niet vermeld	1
Wordt niet doorgestuurd	49
Geen antwoord op de vraag	3
Totaal	170

¹ Elf laboratoria geven aan dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft (5 labo's vermelden expliciet vancomycine (Van B gen, MIC), één labo vancomycine en teicoplanine, één labo ampicilline en één labo high level gentamicine).

² Acht laboratoria geven aan dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft (4 vermelden expliciet dat het om de bevestiging van het Van B gen gaat; één laboratorium vermeldt: "typering antibiotica-resistentie).

3.3. Cultuur M/11025 *Escherichia coli* (urine)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Dame van 40 jaar met recidiverende UWI klachten. Meestal zelf behandeld of door huisarts. Ze biedt zich nu in het hospitaal aan met een ernstige urinaire infectie. Rechtstreeks urine-onderzoek: pyurie +++, bacteriën +++. Identificatie tot op het speciesniveau is vereist."

Escherichia coli

170 100%

Overzicht van de antwoorden op de vraag of dit staal in routine doorgestuurd zou worden:

	Antwoord	N labos
Wordt niet doorgestuurd		165
Geen antwoord op de vraag		5
Totaal		170

3.4. Cultuur M/11028 *Listeria monocytogenes* (hemocultuur)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Hemocultuur van een 75-jarige man met een ethylverleden en levercirrhose. Opname voor hartklachten; 's nachts 38.5°C en verward waarbij hemoculturen (3 flessen) werden afgenomen. Na 20u is één aerobe hemocultuurfles positief. Identificatie tot op het speciesniveau is vereist."

Het staal bevatte eveneens een coagulase negatieve stafylokok als "contaminant"

<u><i>Listeria monocytogenes</i></u> ¹	112	65.9%
<u><i>Listeria monocytogenes type 4</i></u>	2	1.2%
<u><i>Listeria monocytogenes</i> (+ <i>Staphylococcus epidermidis</i>)</u> ²	5	2.9%
<u><i>Listeria monocytogenes</i> + <i>Staphylococcus epidermidis</i></u> ³	26	15.3%
<u><i>Listeria monocytogenes</i> (+ coagulase negatieve stafylokok)</u> ⁴	7	4.1%
<u><i>Listeria monocytogenes</i> + coagulase negatieve stafylokok</u>	6	3.5%
<u><i>Listeria monocytogenes</i> + <i>Staphylococcus hominis</i></u> ⁶	1	0.6%
<u><i>Listeria monocytogenes</i> + commensale stafylokok</u>	1	0.6%
<u><i>Listeria monocytogenes</i> + <i>Staphylococcus epidermidis</i> + <i>Escherichia coli</i></u> ⁷	1	0.6%
<i>Listeria</i> species	3	
<i>Listeria</i> species (+ coagulase negatieve stafylokok) ⁸	1	
<i>Corynebacterium</i> species + <i>Staphylococcus epidermidis</i> ⁹	2	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	
Gram positieve kokken	1	
Wordt niet ambulant uitgevoerd; dergelijk stalen worden uitbesteed aan een hospitaal	1	

¹ Veertien van deze labo's geven in een opmerking aan dat er eveneens een contaminant aanwezig is (10 *S. epidermidis*, 3 CNS en 1 *S. xylosus*).

² Deze laboratoria zetten het antwoord *S. epidermidis* tussen haakjes om aan te geven dat het een contaminant betreft.

³ Twaalf van deze labo's vermelden in een opmerking dat *S. epidermidis* een contaminant is.

⁴ Deze laboratoria zetten het antwoord CNS tussen haakjes om aan te geven dat het een contaminant betreft.

⁵ Vier van deze labo's vermelden in een opmerking dat de CNS een contaminant is.

⁶ Dit laboratorium vermeldt in een opmerking dat *S. hominis* een contaminant is.

⁷ Dit laboratorium vermeldt in een opmerking dat er 2 pathogenen aanwezig zijn (*L. monocytogenes* en *E. coli*) en één contaminant (*S. epidermidis*).

⁸ Dit laboratorium zet het antwoord CNS tussen haakjes om aan te geven dat het een contaminant betreft.

⁹ Eén van deze beide labo's vermeldt in een opmerking dat het twee contaminanten betreft.

Overzicht van de antwoorden op de vraag of dit staal in routine doorgestuurd zou worden:

Antwoord	N labos
Epidemiologische redenen ¹	72
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram ²	12
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram ³	17
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram + andere redenen (niet gepreciseerd)	1
Het laboratorium dat "Gram positieve kokken" geantwoord heeft	1
Reden van doorstuur niet vermeld	3
Wordt niet doorgestuurd	53
Geen antwoord op de vraag	11
Totaal	170

¹ Eén laboratorium vermeldt dat het serotypering en biotypering betreft.

² Eén laboratorium geeft aan dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft.

³ Drie laboratoria geven aan dat het enkel de confirmatie van de identificatie betreft en één laboratorium dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft.

IV. Antibiogram

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

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

Aantal deelnemers = 168 voor M/10848 en 169 voor M/11025. Voor M/10848 voerden het labo dat deze stalen doorstuurt en het labo dat "gram positieve kokken" antwoordde, geen antibiogram uit. Voor M/11025 voerde één labo geen antibiogram uit.

4.1. M/10848 *Enterococcus faecium*

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

Een aantal laboratoria gaven een opmerking bij dit staal:

- Van B: 14 labo's (2 vermeldden expliciet de bevestiging via PCR)
- Van B-like: 2 labo's
- Van B of Van B-like, behandeling met teicoplanine is niet aangewezen: 2 labo's
- Van B waarschijnlijk, te bevestigen: 3 labo's
- VRE: 9 labo's (één van deze labo's antwoordt teicoplanine als resistent in afwachting van bevestiging van het Van A of Van B gen)
- Van C: 1 labo
- β -lactamase negatief: 1 labo

NB in onderstaande tabellen dient de term "gevoelig ("S")" beschouwd te worden als aanwezigheid van synergie van high-level gentamicine met β -lactam antibiotica en/of glycopeptiden (vele laboratoria vermeldden wel dat synergie met vancomycine niet mogelijk is gezien de vancomycine-resistentie). Om redenen van leesbaarheid hebben wij dit in de tabellen als "S" weergegeven.

Tabel 4.1.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Ampicilline	S	165	162	-	2	1 ¹
Gentamicine	S	158	142	6 ²	5 ³	5 ⁴
Vancomycine	R	165	1	6	154	4 ⁵
Teicoplanine	S	133	129	-	2 ⁶	2 ⁷

¹ Eén labo vermeldt dat MIC-bepaling noodzakelijk is.

² Twee van deze laboratoria hebben de "low level" schijfjes gebruikt; 2 Vitek-2 gebruikers hebben een ruw resultaat "S" gewijzigd naar een finaal "I".

³ Vier van deze laboratoria hebben de "low level" schijfjes gebruikt.

⁴ Eén labo vermeldt dat MIC-bepaling noodzakelijk is. Eén labo vermeldt dat de "high level sensitivity" voor de aminoglycosiden bepaald moet worden (welke zij doorsturen). Eén labo vermeldt "low level resistentie: Van B: synergie is mogelijk met β -lactams en teicoplanine maar niet met vancomycine". Twee laboratoria laten het finale antwoord open (één antwoordt een diameter van 25 mm. voor de klassieke Neosensitabs schijfjes, afgelezen met Sirscan; het tweede antwoordt voor Vitek 2 compact: high level en "S" voor ruw en expert antibiogram).

⁵ Drie laboratoria vermelden dat MIC-bepaling noodzakelijk is. Eén labo laat het finale antwoord open (diameter met papieren schijfjes = 12 mm. en ruw resultaat = "R").

⁶ Eén labo antwoordt teicoplanine als resistent in afwachting van bevestiging van het Van A of Van B gen. Het andere vermeldt "Van B like, bij klinische behandeling met teicoplanine bekomt men geen goede resultaten".

⁷ Twee laboratoria vermelden dat MIC-bepaling noodzakelijk is.

Het in de tabellen 4.1.2 tot en met 4.1.11 weergegeven resultaat is het finale resultaat, na eventuele wijziging via toepassing der expert-regels.

Niet alle deelnemers vermeldden de gebruikte methode of lading. Voor zover deze aangegeven werd door de deelnemers, hebben wij voor de schijfjesmethode met de papieren schijfjes of Neosensitabs schijfjes mediaan, minimum en maximum diameter bepaald. Sommige deelnemers vermeldden een andere lading dan de aangewezen lading of vermeldden de lading niet; deze laboratoria werden niet in de berekening der medianen, minimum en maximum opgenomen.

De resultaten van de laboratoria die de Osiris gebruikt hebben om de diameters van de papieren schijfjes af te lezen vindt u in tabel 4.1.10.

Tabel 4.1.2. Bekomen diameters met de papieren schijfjes voor staal M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Ampicilline	21 (22)	10	26	14 – 33	21	-	1	-
Gentamicine	12 (18)	120	23	10 – 27	16	-	2 ¹	-
Vancomycine	16 (17)	30	12	6 – 18	1	2	10	4 ²
Teicoplanine	4 (4)	30	18	15 – 21	4	-	-	-

¹ De beide resultaten "R" werden geantwoord door laboratoria die de "low level" schijfjes gebruikt hebben.

² Twee laboratoria vermelden dat MIC-bepaling noodzakelijk is. Eén laboratorium verwijst naar de MIC-bepaling die het zelf uitvoerde (resultaat: I). Eén labo laat het finale antwoord open (diameter = 12 mm. en ruw resultaat = "R").

Zoals in voorgaande rapporten vermeldden wij voor de Neosensitabs schijfjes de schijfjes met klassieke Neosensitabs ladingen ("old") en met de nieuwe ladingen ladingen ("new") afzonderlijk. U vindt de resultaten in tabellen 4.1.3. a en b. Voor de nieuwe ladingen zijn de berekeningen van mediaan, minimum en maximum echter niet uitgevoerd omwille van het beperkte aantal deelnemers voor deze kiem. De resultaten van de laboratoria die de Sirscan gebruikt hebben om de diameters van deze schijfjes af te lezen vindt u in tabel 4.1.11 a en b.

Tabel 4.1.3.a. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (klassieke Neosensitabs ladingen) voor staal M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Ampicilline ¹	20 (24)	33	30	21 – 38	24	-	-	-
Gentamicine	20 (27)	250	28	18 – 31	23	2 ²	1 ³	1 ⁴
Vancomycine ⁵	21 (25)	5	10	9 – 15	-	2	23	-
Teicoplanine	5 (10)	30	17	16 – 20	9	-	-	1 ⁶

¹ Tevens antwoordde één laboratorium een diameter >32 mm.

² De beide resultaten "I" werden geantwoord door laboratoria die de "low level" schijfjes gebruikt hebben.

³ Het resultaat "R" werd geantwoord door een laboratorium dat de "low level" schijfjes gebruikt heeft.

⁴ Eén laboratorium verwijst naar de MIC-bepaling die het zelf uitvoerde (resultaat: S).

⁵ Tevens antwoordde één laboratorium een diameter van 1 mm.

⁶ Eén labo vermeldt dat MIC-bepaling noodzakelijk is.

Tabel 4.1.3.b. Bekomen resultaten met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/10848 (*Enterococcus faecium*)

Antibioticum	Aantal gebruikers	Resultaat			
		S	I	R	*
Ampicilline	4	3	-	-	1 ¹
Gentamicine	3	2	-	-	1 ²
Vancomycine	3	-	-	3	-
Teicoplanine	4	4	-	-	-

¹ Eén labo vermeldt dat MIC-bepaling noodzakelijk is.

² Eén labo vermeldt dat MIC-bepaling noodzakelijk is.

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/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Ampicilline	12	12 x S	2 x 0.12 mg/L; 7 x 0.125 mg/L; 2 x 0.19 mg/L; 1 x 0.5 mg/L
Gentamicine	8	6 x S	2 x 4 mg/L; 2 x 6 mg/L; 1 x 8 mg/L; 1 x 12 mg/L
		1 x R	1 x 16 mg/L
		1 x * ¹	1 x 12 mg/L
Vancomycine	31	4 x I	2 x 8 mg/L; 1 x 12 mg/L; 1 x 16 mg/L
		27 x R ²	1 x 4 mg/L; 2 x 12 mg/L; 3 x 16 mg/L; 4 x 24 mg/L; 4 x 32 mg/L; 3 x 48 mg/L; 3 x 64 mg/L; 1 x 96 mg/L; 1 x > 4 mg/L; 2 x > 32 mg/L; 3 x ≥256 mg/L
Teicoplanine	21	20 x S	1 x 0.5 mg/L; 3 x 0.75 mg/L; 8 x 1 mg/L; 2 x 1.5 mg/L; 1 x 2 mg/L; 2 x 3mg/L; 1 x 4 mg/L; 1 x 8 mg/L; 1 x ≤1 mg/L
		1 x R ³	1 x 1 mg/L

¹ Eén labo vermeldt "low level resistentie: Van B: synergie is mogelijk met β -lactams en teicoplanine maar niet met vancomycine".

² Eén labo (dat een MIC van 12 mg/L bekwam) vermeldt: "Vermoeden van Van B: extrapolatie I→R voor vancomycine, uit voorzichtigheid".

³ Eén labo antwoordt teicoplanine als resistent in afwachting van bevestiging van het Van A of Van B gen.

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

Tabel 4.1.5. Resultaten bekomen MIC-waarden met de MICE-test voor staal M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Ampicilline	1	1 x S	0.25 mg/L
Gentamicine	1	1 x I	8 mg/L
Vancomycine	9	1 x I	8 mg/L
		8 x R	2 x 8 mg/L; 1 x 16 mg/L; 4 x 32 mg/L; 1 x geen MIC ingevuld
Teicoplanine	2	2 x S	1 x 0.5 mg/L; 1 x geen MIC ingevuld

De resultaten die met de MIC test Strip bekomen werden, zijn samengevat in onderstaande tabel.

Tabel 4.1.6. Resultaten bekomen MIC-waarden met de MIC test Strip voor staal M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Ampicilline	2	2 x S	0.125 mg/L; 0.5 mg/L
Vancomycine	3	3 x R	8 mg/L; 16 mg/L; 48 mg/L
Teicoplanine	1	1 x S	0.25 mg/L

De resultaten bekomen met de Vitek worden weergegeven in tabel 4.1.7.

Tabel 4.1.7. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Vitek 2				Meest vermelde MIC waarde (mg/L)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Vitek 2 compact				Meest vermelde MIC waarde (mg/L)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	Finaal resultaat	S	I	R			*	Finaal resultaat	S	I		
Ampicilline	57	-	1	-	≤2	55 (58)	30	-	-	-	≤2	28 (30)
Gentamicine	55	1	-	1 ¹	‡	(57)	28	1	-	1 ²	‡	(30)
Vancomycine	-	-	54	-	≥32	50 (54)	-	-	29	-	≥32	29 (32)
Teicoplanine	54	-	-	-	≤0.5	51 (54)	31	-	1³	-	≤0.5	28 (32)

‡ De Vitek geeft geen kwantitatief resultaat doch het antwoord SYN-S voor gentamicine bij enterokokken

¹ Eén labo vermeldt "low level resistentie: Van B: synergie is mogelijk met β-lactams en teicoplanine maar niet met vancomycine".

² Eén labo laat het finale antwoord open en antwoordt high level en "S" voor ruw en expert antibiogram.

³ Eén labo antwoordt "Van B like, bij klinische behandeling met teicoplanine bekomt men geen goede resultaten".

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 vancomycine vond 1 laboratorium een MIC >256 mg/L met Vitek 2
- voor teicoplanine vond 1 deelnemer een MIC ≤5 mg/L met Vitek 2 compact

De resultaten bekomen met de ATB methode worden weergegeven in tabel 4.1.8.

Tabel 4.1.8. Resultaten bekomen met de ATB methode voor staal M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Ampicilline	5	-	-
Gentamicine	4	1	-
Vancomycine	-	-	5
Teicoplanine	5	-	-

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.1.9.

Tabel 4.1.9. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/l)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Ampicilline	10	-	-	≤2	10 (10)
Gentamicine	8	-	-	≤500	7 (8)
Vancomycine	-	-	11	>4	11 (11)
Teicoplanine	11	-	-	≤1	11 (11)

De resultaten bekomen met de toestellen Osiris en Sirscan worden weergegeven in tabel 4.1.10. en 4.1.11 a en b De berekeningen van mediaan, minimum en maximum zijn echter niet uitgevoerd omwille van het beperkte aantal deelnemers voor deze kiem.

Tabel 4.1.10. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Aantal gebruikers	Resultaat		
		S	I	R
Ampicilline	5	5	-	-
Gentamicine	3	2	-	1 ¹
Vancomycine	4	1	-	3
Teicoplanine	1	1	-	-

¹ Het resultaat "R" werd geantwoord door een laboratorium dat de "low level" schijfjes gebruikt heeft.

Tabel 4.1.11.a. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (klassieke Neosensitabs ladingen) voor staal M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Aantal gebruikers	Resultaat			
		S	I	R	*
Ampicilline	4	4	-	-	-
Gentamicine	5	4	-	-	1 ¹
Vancomycine	3	-	-	3	-
Teicoplanine	1	1	-	-	-

¹ Eén laboratorium antwoordt wel de diameter maar niet de interpretatie hiervan.

Tabel 4.1.11.b. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Aantal gebruikers	Resultaat		
		S	I	R
Ampicilline	5	5	-	-
Gentamicine	3	3	-	-
Vancomycine	4	1	-	3
Teicoplanine	1	1	-	-

We moeten verder nog vermelden dat:

- één laboratorium de Microscan gebruikt heeft voor het testen van de gevoeligheid voor de 4 antibiotica (met de verwachte resultaten voor al deze antibiotica)
- één laboratorium de diameter van de papieren schijfjes afgelezen heeft met de Sirscan voor ampicilline, gentamicine (beide "S") en vancomycine (met verwijzing naar de uitgevoerde MIC-bepaling ("R"))
- vijf laboratoria de vancoscreen bodem gebruikt hebben voor het testen van de gevoeligheid voor vancomycine (allen met resultaat "R"); voor één van deze laboratoria is dit de enige methode die het gebruikt heeft om de vancomycine-gevoeligheid te bepalen

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 (zie ook de beschrijving onder de verschillende technieken voor de verduidelijking van sommige van deze wijzigingen):

- ampicilline:
 - o S→R
 - Vitek 2 compact: 1 labo
- gentamicine:
 - o S→I
 - Vitek 2: 1 labo
 - o I→R
 - Papieren schijfjes: 1 labo
 - Osiris: 1 labo

- vancomycine
 - S→I
 - Papieren schijfjes: 1 labo (mede op basis van resultaten van andere technieken)
 - Vitek 2 compact: 1 labo
 - I→R
 - Neosensitabs klassiek: 1 labo (mede op basis van resultaten van andere technieken)
 - E-test: 1 labo (mede op basis van resultaten van andere technieken)
 - MICE: 3 labo's (waarvan 2 mede op basis van resultaten van andere technieken)
- teicoplanine
 - S→R
 - E-test: 1 labo
 - Vitek 2 compact: 1 labo

4.2. M/11025 Escherichia coli

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

Tabel 4.2.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/11025 (*Escherichia coli*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Ampicilline	S	164	157	4	3	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	S	169	167	1	1	-
Co-trimoxazole	S	168	168	-	-	-
Cefuroxime	S	165	157	5	2 ¹	1 ²
Nitrofurantoïne	R	167	10	17	140	-
Chinolone						
Ciprofloxacin	R	124	1	-	123	-
Levofloxacin	R	14	-	-	14	-
Norfloxacin	R	40	-	-	40	-
Ofloxacin	R	9	-	-	9	-
Nalidixinezuur	R	3	-	-	3	-
Chinolone ³	R	9	1	-	8	-

¹ Deze beide laboratoria vermelden het testen van cefuroxime axetil.

² Eén laboratorium antwoordt: "S voor parenterale cefuroxime en I voor orale cefuroxime".

³ Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte fluorochinolone niet.

Wij willen er op aandringen dat u de naam van het gebruikte chinolone zou vermelden: dit komt de verwerking van de resultaten ten goede.

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

Niet alle deelnemers vermeldden de gebruikte methode of lading. Voor zover deze aangegeven werd door de deelnemers, hebben wij voor de schijfjesmethode met de papieren schijfjes of Neosensitabs schijfjes mediaan, minimum en maximum diameter bepaald. Sommige deelnemers vermeldden een andere lading dan de aangewezen lading of vermeldden de lading niet; deze laboratoria werden niet in de berekening der medianen, minimum en maximum opgenomen.

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

Tabel 4.2.2. Bekomen diameters met de papieren schijfjes voor staal M/11025 (*Escherichia coli*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	14 (15)	10	18	15 – 23	13	1	1
Amoxicilline-clavulaanzuur	15 (16)	20 + 10	21	18 – 28	16	-	-
Co-trimoxazole	17 (18)	1.25 + 23.75	27	25 – 30	18	-	-
Cefuroxime	13 (15)	30	22	18 – 25	13	2	-
Nitrofurantoïne	15 (19)	300	12	8 – 23	1	2	16
Chinolone							
Ciprofloxacin	10 (10)	5	6	6 – 10	-	-	10
Levofloxacin	3 (3)	5	6	6 – 13	-	-	3
Norfloxacin	4 (6)	10	7	6 – 7	-	-	6

Zoals in voorgaande rapporten vermeldden wij voor de Neosensitabs schijfjes de schijfjes met klassieke Neosensitabs ladingen (“old”) en met de nieuwe ladingen 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 4.2.9 a en b.

Tabel 4.2.3.a. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (klassieke Neosensitabs ladingen) voor staal M/11025 (*Escherichia coli*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	16 (19)	33	24	21 – 28	17	1	1
Amoxicilline-clavulaanzuur	21 (22)	30 + 15	24	22 – 28	22	-	1
Co-trimoxazole ¹	20 (22)	5.2 + 240	37	30 – 40	22	-	-
Cefuroxime	20 (21)	60	26	22 – 30	20	1	-
Nitrofurantoïne	21 (22)	260	18	15 – 21	-	5	17
Chinolone							
Ciprofloxacin	13 (15)	10	10	9 – 10	-	-	15
Levofloxacin	2 (2)	5	10	9 – 10	-	-	2
Norfloxacin	4 (4)	10	10	9 – 10	-	-	4
Ofloxacin	1 (1)	10	10	10 – 10	-	-	1

¹ Tevens antwoordde één laboratorium een diameter >32 mm.

Tabel 4.2.3.b. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/11025 (*Escherichia coli*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Ampicilline	5 (6)	10	18	17 – 19	6	-	-	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	7 (7)	20 + 10	21	20 – 24	7	-	-	-
Co-trimoxazole	6 (6)	1.25 + 23.75	30	25 – 33	6	-	-	-
Cefuroxime	6 (6)	30	23	20 – 24	5	-	-	1 ¹
Nitrofurantoïne	4 (6)	300	12	11 – 14	-	-	6	-
Chinolone								
Ciprofloxacin	5 (5)	5	9	9 – 10	-	-	5	-
Norfloxacin	2 (2)	10	10	9 – 10	-	-	2	-
Ofloxacin	1 (1)	5	9	9 – 9	-	-	1	-

¹ Eén laboratorium antwoordt: "S voor parenterale cefuroxime en I voor orale cefuroxime".

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/11025 (*Escherichia coli*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Ampicilline	2	2 x S	4 mg/L; 8 mg/L
Amoxicilline-clavulaanzuur	1	1 x S	6 mg/L
Co-trimoxazole	1	1 x S	0.047 mg/L
Cefuroxime	1	1 x S	4 mg/L
Chinolone			
Ciprofloxacin	1	1 x R	>32 mg/L

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

Tabel 4.2.5. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/11025 (*Escherichia coli*).

Antibioticum	Vitek 2			Meest vermelde MIC waarde (mg/L)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Vitek 2 compact			Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	
	Finaal resultaat	S	I			R	Finaal resultaat	S		I
Ampicilline	61	1	1	8	53 (63)	35	-	-	8	24 (35)
Amoxicilline-clavulaanzuur	61	1	1	8	36 (63)	35	-	-	8	17 (35)
Co-trimoxazole	63	-	-	≤20	61 (63)	34	-	-	≤20	30 (34)
Cefuroxime	62	1	-	4	59 (63)	35	-	-	4	29 (35)
Nitrofurantoïne	-	7	54	128	50 (61)	-	3	32	128	27 (35)
Chinolone										
Ciprofloxacin	-	-	50	≥4	49 (50)	-	-	27	≥4	24 (27)
Levofloxacin	-	-	3	≥8	2 (3)	-	-	1	≥8	1 (1)
Norfloxacin	-	-	16	≥16	15 (16)	-	-	5	≥16	5 (5)
Nalidixinezuur	-	-	2	≥32	2 (2)	-	-	-	-	-
Chinolone	1	-	2	≥4	3 (3)	-	-	4	≥4	3 (4)

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 ampicilline vonden 7 laboratoria een MIC van 4 mg/L en één laboratorium een MIC van 16 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vonden 7 laboratoria een MIC van 4 mg/L
- voor amoxicilline-clavulaanzuur vonden 24 deelnemers een MIC van 4 mg/L en één laboratorium een MIC ≤ 2 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vonden 13 laboratoria een MIC van 4 mg/L en één laboratorium een MIC ≤ 2 mg/L
- voor co-trimoxazole vond één laboratorium een MIC van 4 mg/L met Vitek 2
- voor cefuroxime vond één laboratorium een MIC van 16 mg/L en één een MIC ≤ 1 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vond één laboratorium een MIC van 8 mg/L en één een MIC ≤ 1 mg/L
- voor nitrofurantoïne vonden 7 laboratoria een MIC van 64 mg/L en één laboratorium een MIC van 256 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vonden 3 laboratoria een MIC van 64 mg/L en één een MIC ≥ 16 mg/L
- voor levofloxacin vond 1 deelnemer een MIC ≥ 4 mg/L met Vitek 2

De resultaten bekomen met de ATB methode worden weergegeven in tabel 4.2.6.

Tabel 4.2.6. Resultaten bekomen met de ATB methode voor staal M/11025 (*Escherichia coli*).

Antibioticum	Resultaat		
	S	I	R
Ampicilline	5	-	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	5	-	-
Co-trimoxazole	5	-	-
Cefuroxime	3	-	2
Nitrofurantoïne	5	-	-
Chinolone			
Ciprofloxacin	-	-	4
Levofloxacin	-	-	2
Norfloxacin	-	-	3
Ofloxacin	-	-	4

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.2.7.

Tabel 4.2.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/11025 (*Escherichia coli*).

Antibioticum	Resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/l)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Ampicilline	11	-	-	≤2	9 (11)
Amoxicilline-clavulaanzuur	11	-	-	4/2	8 (11)
Co-trimoxazole	11	-	-	≤1/19	11 (11)
Cefuroxime	11	-	-	4	11 (11)
Nitrofurantoïne	4	-	6	*	(11)
Chinolone					
Ciprofloxacin	-	-	8	>1	8 (8)
Levofloxacin	-	-	1	>2	1 (1)
Norfloxacin	-	-	1	>2	1 (1)
Chinolone	-	-	2	>1	2 (2)

* De vier laboratoria die 64 mg/L antwoorden, geven de interpretatie "S"; de 5 die > 64 mg/L en het ene dat ≥ 64 mg/L antwoorden, geven de interpretatie "R"

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 ampicilline vonden 2 laboratoria een MIC van 4 mg/L
- voor amoxicilline-clavulaanzuur vonden 2 laboratoria een MIC van 8/2 mg/L

De resultaten bekomen met de toestellen Osiris en Sirscan worden weergegeven in tabel 4.2.8. en 4.2.9 a en b Gezien 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 4.2.8. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/11025 (*Escherichia coli*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	7 (7)	10	20	16 – 24	6	1	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	8 (8)	20 + 10	23	20 – 33	8	-	-
Co-trimoxazole	8 (8)	1.25 + 23.75	30	26 – 31	8	-	-
Cefuroxime	7 (7)	30	21	19 – 23	6	1	-
Nitrofurantoïne	7 (8)	300	12	10 – 14	-	-	8
Chinolone							
Ciprofloxacine	6 (6)	5	6	6 – 6	-	-	6
Norfloxacine	4 (4)	10	6	6 – 6	-	-	4
Ofloxacine	2 (2)	5	8	6 – 9	-	-	2

Tabel 4.2.9.a. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (klassieke Neosensitabs ladingen) voor staal M/11025 (*Escherichia coli*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	5 (6)	33	24	23 – 26	6	-	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	5 (6)	30 + 15	26	24 – 28	6	-	-
Co-trimoxazole	5 (6)	5.2 + 240	37	36 – 43	6	-	-
Cefuroxime	4 (5)	60	26	25 – 29	5	-	-
Nitrofurantoïne	5 (6)	260	19	13 – 19	-	-	6
Chinolone							
Ciprofloxacine	2 (3)	10	9	9 – 9	-	-	3
Norfloxacine	2 (2)	5	11	9 – 12	-	-	2
Ofloxacine	1 (1)	130	9	9 – 9	-	-	1

Tabel 4.2.9.b. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/11025 (*Escherichia coli*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	5 (5)	10	19	17 – 22	5	-	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	5 (5)	20 + 10	21	20 – 25	5	-	-
Co-trimoxazole	5 (5)	1.25 + 23.75	29	28 – 33	5	-	-
Cefuroxime	4 (4)	30	23	23 – 23	4	-	-
Nitrofurantoïne	4 (4)	300	13	11 – 14	-	-	4
Chinolone							
Ciprofloxacin ¹	3 (4)	5	9	6 – 16	1	-	3
Ofloxacin	1 (1)	5	9	9 – 9	-	-	1

¹ Tevens antwoordde één laboratorium een diameter van 34 mm

We moeten verder nog vermelden dat:

- één laboratorium de Microscan gebruikt heeft voor het testen van de gevoeligheid voor ampicilline, amoxicilline-clavulaanzuur, co-trimoxazole, cefuroxime (telkens “S”), nitrofurantoïne (“I”) en levofloxacin (“R”)
- één laboratorium de diameter van de papieren schijfjes afgelezen heeft met de Sirscan voor ampicilline, amoxicilline-clavulaanzuur, co-trimoxazole, cefuroxime (telkens “S”), nitrofurantoïne en ciprofloxacin (beide laatste “R”)

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

- ampicilline:
 - o I→R
 - Vitek 2: 1 labo
 - o S→I
 - Vitek 2: 1 labo
- amoxicilline-clavulaanzuur:
 - o S→R
 - Vitek 2: 1 labo
 - o S→I
 - Vitek 2: 1 labo

V. Parasitologie

5.1. De monsters

Ter gelegenheid van deze enquête werden 2 geformaliseerde fecesstalen verzonden. 163 laboratoria hebben aan deze enquête deelgenomen.

Wij wensen te benadrukken dat u in de loop van de enquête steeds een nieuw staal mag vragen.

Het aantal toolkit gebruikers bedroeg 51.5%. Wij zouden willen vragen om zoveel mogelijk van deze antwoordmogelijkheid gebruik te maken. Bovendien een snellere verwerking, biedt de toolkit tevens het voordeel dat een aantal fouten vermeden kunnen worden: schrijffouten, gebruik van oudere codes, encodagefouten,...

De stalen waren vergezeld van volgende klinische informatie:

P/10973

21-jarige man, reis naar Tanzania met ter plekke overvloedige waterige diarree waarschijnlijk met koorts en sinds thuiskomst moeheid, af en toe krampen, soms bloed bij de stoelgang.

P/10974

Een 14-jarig meisje heeft een 14-daagse rondreis gemaakt in Indonesië (Bali en Jakarta). Op het einde van de 2^e week heeft zij diarree. Na haar terugkeer meldt zij zich in het ziekenhuis met waterige diarree (5-6/dag) en nausea.

Staal P/10973 bevatte oöcysten van *Cryptosporidium parvum*.

Staal P/10974 bevatte oöcysten van *Cyclospora cayetanensis*.

5.2. Resultaten voor staal P/10973

De 163 laboratoria leverden 165 antwoorden in. Vijftien laboratoria antwoordden "Afwezigheid van parasieten", 146 laboratoria antwoordden één parasiet en twee laboratoria antwoordden 2 parasieten.

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.2.1. Resultaten voor staal P/10973

Resultaat	Aantal laboratoria
<i>Cryptosporidium parvum</i>	145
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	2
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1
<i>Endolimax nana</i>	1
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1
Afwezigheid van parasieten*	15
Totaal	165

* Eén van deze laboratoria vermeldt dat het opsporen van *Cryptosporidium* uitbesteed wordt. Een tweede laboratorium geeft aan dat het staal zou doorgestuurd worden in geval geen andere oorzaak gevonden wordt voor de klachten en de klachten blijven duren. Een derde vermeldt dat een in geval van voortdurende klachten een nieuw staal gevraagd zou worden voor parasitologisch onderzoek en coprocultuur.

Eén laboratorium dat "*Cyclospora cayetanensis*" antwoordde, heeft wellicht beide stalen verwisseld: het heeft immers voor staal P/10974 "*Cryptosporidium parvum*" geantwoord; het andere labo dat "*Cyclospora cayetanensis*" antwoordde, gaf voor staal P/10974 het antwoord "Afwezigheid van parasieten".

De laboratoria die een combinatie van 2 parasieten geantwoord hebben, vermeldden respectievelijk volgende combinaties: "*Cryptosporidium parvum* + *Ascaris lumbricoides*" en "*Endolimax nana* + *Strongyloides stercoralis*".

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Cryptosporidium parvum* worden in tabel 5.2.2. weergegeven.

Tabel 5.2.2. Evolutiestadia voor *Cryptosporidium parvum* voor staal P/10973

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Oöcyste	126
Cyste	13
Ei	2
Niet gepreciseerd	2
Hematofaag vegetatieve vorm	1
Trofozoïet	1
Totaal	145

Een aantal van de afwijkende evolutiestadia zijn wellicht te wijten aan het gebruik van oudere codes. Wij willen erop aandringen dat u steeds de meest recente codes gebruikt. Indien u hier niet meer over beschikt kan u een nieuw exemplaar aanvragen of de codes raadplegen op onze website:

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/_nl/parasitologie.htm

Bij gebruik van de Toolkit kan u antwoorden via een aflopende lijst.

Zes laboratoria zouden het staal in routine naar een referentiecentrum doorsturen; dit betreft 4 laboratoria die "*C. parvum*" geantwoord hebben, het laboratorium dat "*Endolimax nana* + *Strongyloides stercoralis*" antwoordde en één laboratorium dat "Afwezigheid van parasieten" antwoordde (cfr. supra).

Commentaar over *Cryptosporidium parvum*

Van 163 laboratoria stuurden 145 (89%) een correct antwoord. Mogelijk hebben enkele laboratoria die geen parasieten terugvonden, *Cryptosporidium* opgespoord met immunoassays. Het is belangrijk de bijsluiter te raadplegen en na te gaan of onderzoek van gefixeerde stalen betrouwbare resultaten geeft.

Cryptosporidium is wereldwijd een belangrijke oorzaak van diarree, vooral bij jonge kinderen (< 5 jaar) en mensen met immuunstoornissen.

Cryptosporidium behoort tot het subphylum Apicomplexa en de familie Cryptosporidiidae. Het is een intracellulaire, extracytoplasmatische parasiet. Twee species, *C. hominis* en *C. parvum*, zijn verantwoordelijk voor de meeste bevestigde gevallen. *C. hominis* veroorzaakt voornamelijk infecties bij de mens en is eerder geassocieerd aan reizen terwijl *C. parvum* zowel mensen als dieren kan infecteren en dan ook vaker voorkomt bij infecties waarbij de blootstelling via contact met dieren gebeurde. Het kan dus interessant zijn een identificatie tot op niveau van het species uit te voeren omdat dat epidemiologische informatie oplevert die kan leiden tot de bron van besmetting.

Vooraf bij patiënten met immuunstoornissen komen ook andere *Cryptosporidium* species voor zoals *C. felis*, *C. meleagridis*, *C. ubiquitum* en *C. canis* (1).

De transmissie van *Cryptosporidium* is faeco-oraal. Zowel mens-op-mens transmissie (binnen een huishouden of kinderkribbe) als overdracht via dieren (bezoek aan een kinderboerderij) is mogelijk. De oöcysten, die de infectieuze sporozoïeten bevatten, kunnen langdurig overleven in vochtige grond en inname van lage aantallen oöcysten volstaan om ziekte te veroorzaken. Uitbraken op grote schaal zijn meestal geassocieerd aan gecontamineerd drinkwater. De normale desinfectie van water doodt *Cryptosporidium* niet. Transmissie via voedsel komt minder vaak voor.

Bij een *Cryptosporidium* infectie is vooral de dunne darm aangetast met malabsorptie en beperkte inflammatie wat leidt tot waterige diarree, buikkrampen, braken, milde koorts en verlies van eetlust. De incubatietijd is 3-12 dagen en dosisafhankelijk. Symptomen duren gemiddeld 12 dagen en kunnen tot een maand aanslepen. Asymptotisch dragerschap is mogelijk.

Patiënten met (T-cel-)immuunstoornissen hebben vaak chronische en hardnekkige infecties waarbij de hele gastro-intestinale tractus aangetast is tot de galblaas en ductus pancreaticus toe.

De infectie is self-limiting hoewel rehydratie nodig kan zijn. Omdat de oöcysten in grote aantallen worden uitgescheiden en lage aantallen oöcysten volstaan om ziekte te veroorzaken, moet patiënten op het hart gedrukt worden een goede persoonlijke hygiëne te respecteren. Bovendien moet men patiënten afraden te zwemmen (omdat oöcysten niet gedood worden bij het chloreren van zwembadwater en het filteren vaak onvoldoende goed gebeurt) en dat tot twee weken nadat de diarree gestopt is daar aangetoond is dat de oöcysten zo lang worden uitgescheiden. De middelen om de

infectie te behandelen zijn beperkt en de behandeling van een patiënt met immuniteitsstoornissen zal er dus op gericht zijn de immuniteit te herstellen (2-3).

De diagnose kan gesteld worden met microscopie en antigeendetectie. PCR is gevoeliger en laat identificatie tot op het niveau van de species toe maar is veel minder ingeburgerd in de routinediagnostiek.

De oöcysten hebben een diameter van 4-6 µm. Door hun kleine afmetingen kunnen ze makkelijk gemist worden en verward met gistcellen. Ze kleuren echter niet met jodine. Permanente kleuringen (trichroom, Fe-hematoxyline) kleuren de oöcysten niet goed aan maar bij grote concentraties kunnen ze wel gedetecteerd worden. De oöcysten kleuren met auramine maar confirmatie met een zuurvaste kleuring of immunologische test is nodig. Een eenvoudig alternatief voor de screening is de negatieve kleuring van Heine (4). Gefixeerde stalen kunnen met gemodificeerde zuurvaste kleuringen gekleurd worden waarbij vooral een correcte ontkleuring belangrijk is (3). De specificiteit van microscopische methoden is goed in handen van ervaren personeel en hangt af van de kwaliteit van het preparaat, de densiteit van de parasiet, de mate waarin de oöcysten kleuren en van de tijd die aan het bekijken van het preparaat gespendeerd wordt. Artefacten kunnen een probleem vormen. Voor laboratoria die niet vertrouwd zijn met de methode is het nuttig resultaten van patiënten te vergelijken met een positieve controle.

De antigeendetectie gebeurt met EIA of met individuele immunochromatografische (snel)testen. Deze laatste bestaan voor de detectie van *Cryptosporidium* alleen of in combinatie met *Giardia* en eventueel *E. histolytica*. De specificiteit van al deze testen is zeer behoorlijk. De gevoeligheid varieert per studie en is beter voor EIA's dan voor de snelsten (5-8). Laboratoria met voldoende aanvragen testen dus beter in batch met een EIA. De antigeendetectie is even goed voor *C. hominis* als voor *C. parvum*. Er zijn aanwijzingen dat de minder courante *Cryptosporidium* spp. minder goed gedetecteerd worden (5,8).

Bij patiënten waarvan de stalen in het ITG onderzocht worden, wordt bij bijna de helft door de arts gevraagd *Cryptosporidium* op te sporen. *Cryptosporidium* wordt gevonden in 0.41-0.68% van de patiënten. Sporadisch wordt *Cryptosporidium* aangetoond in het met Fe-hematoxyline gekleurd preparaat.

Uit een studie van 2591 reizigers die consulteerden in het ITG van april 2005 tot mei 2006 bleek dat respectievelijk 12, 14 en 31 *Cryptosporidium*-infecties gediagnosticeerd werden met de kleuring volgens Heine, een ELISA en PCR. De PCR was duidelijk sterker positief indien de parasiet ook microscopisch en/of met ELISA gedetecteerd werd (9).

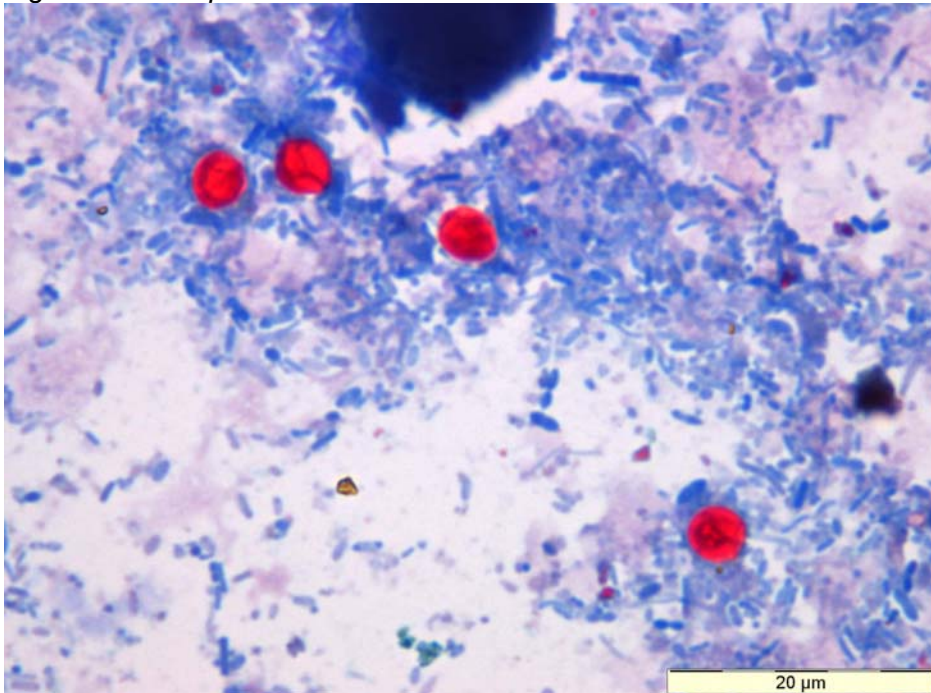
Daar de oöcysten van *Cryptosporidium* rechtstreeks infectieus zijn is het fixeren van de stoelgang met formaline of SAF te verkiezen tenzij gepaste maatregelen worden genomen naar bioveiligheid toe.

M. Van Esbroeck, ITG, Antwerpen

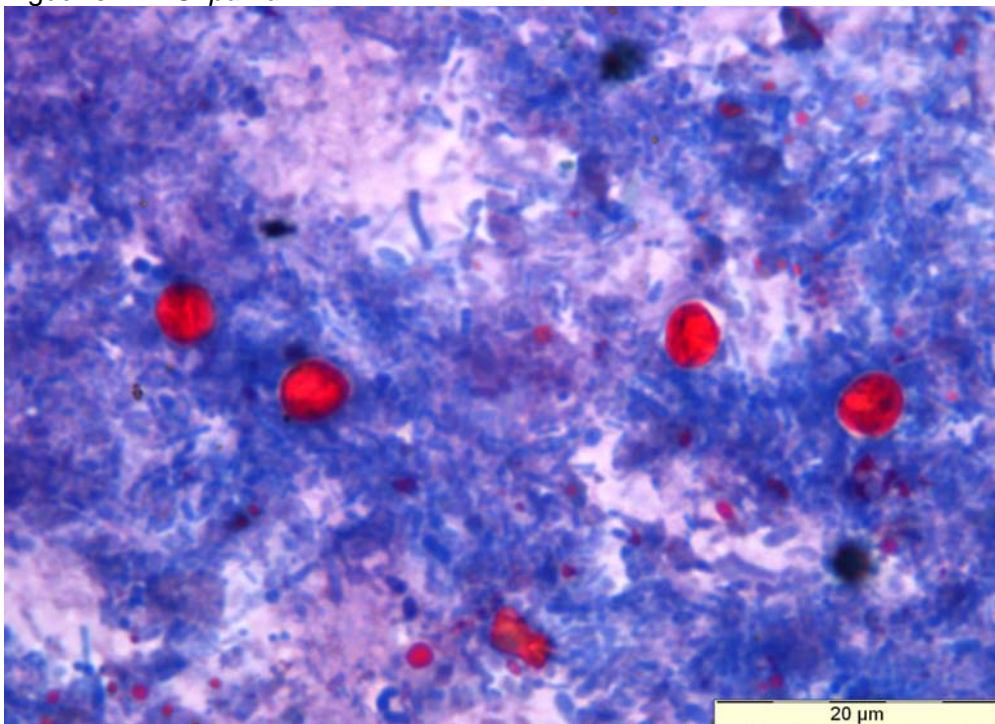
Referenties

1. The ANOFEL *Cryptosporidium* National Network. 2010. Laboratory-based surveillance for *Cryptosporidium* in France, 2006–2009. *Eurosurveillance*, Volume 15, Issue 33
2. Davies AP and Chalmers RM. 2009. Cryptosporidiosis. *BMJ*. 339: 963-967.
3. Manual of Clinical Microbiology. P. Murray. 8ste editie. Hfst.134. *Cryptosporidium*, *Cyclospora* and *Isospora*. Y. Ortega et al. Blz. 2008.
4. Potters I, Van Esbroeck M. 2010. Negative Staining Technique of Heine for the Detection of *Cryptosporidium* spp.: A Fast and Simple Screening Technique. *The Open Parasitology Journal*. 4: 1-4.
5. Agnamey P, Sarfati C, Pinel C, Rabodoniriina M, Kapel N, Dutoit E, Garnaud C, Diouf M, Garin JF, Totet A, Derouin F. ANOFEL *Cryptosporidium* National Network. 2011. Evaluation of four commercial rapid immunochromatographic assays for detection of *Cryptosporidium* antigens in stool samples: a blind multicenter trial. *J Clin Microbiol*. 49 (4):1605-7.
6. El-Moamly AA, El-Sweify MA. ImmunoCard STAT! cartridge antigen detection assay compared to microplate enzyme immunoassay and modified Kinyoun's acid-fast staining technique for detection of *Cryptosporidium* in fecal specimens. *Parasitol Res*. 2011 Aug 14. [Epub ahead of print]
7. Gaafar MR. Evaluation of enzyme immunoassay techniques for diagnosis of the most common intestinal protozoa in fecal samples. *Int J Infect Dis*. 2011 Aug;15(8):e541-4. Epub 2011 Jun 1.
8. Chalmers RM, Campbell B, Crouch N, Charlett A, Davies A. 2011. Comparison of the diagnostic sensitivity and specificity of seven *Cryptosporidium* assays used in the United Kingdom. *J Med Microbiol*. Published July 14 as doi: 10.1099/jmm.0.034181-0.
9. Ten Hove R. J., M. van Esbroeck, T. Vervoort, J. van den Ende, L. van Lieshout and J. J. Verweij. Molecular diagnostics of intestinal parasites in returning travellers. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009. 28(9):1045-53.

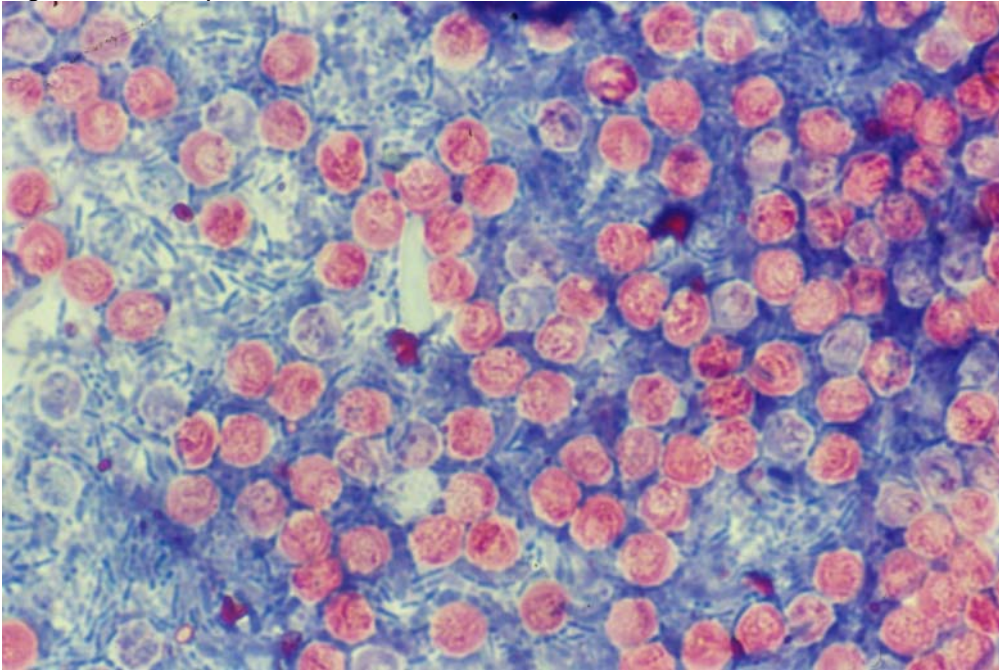
Figuur 5.2.1. *C. parvum*



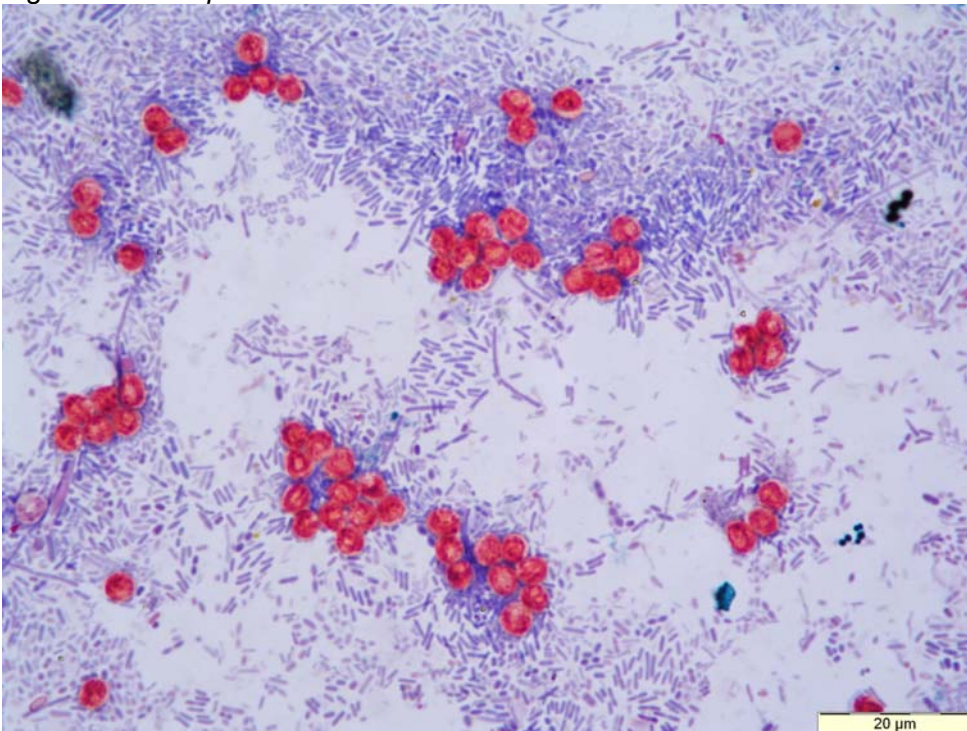
Figuur 5.2.2. *C. parvum*



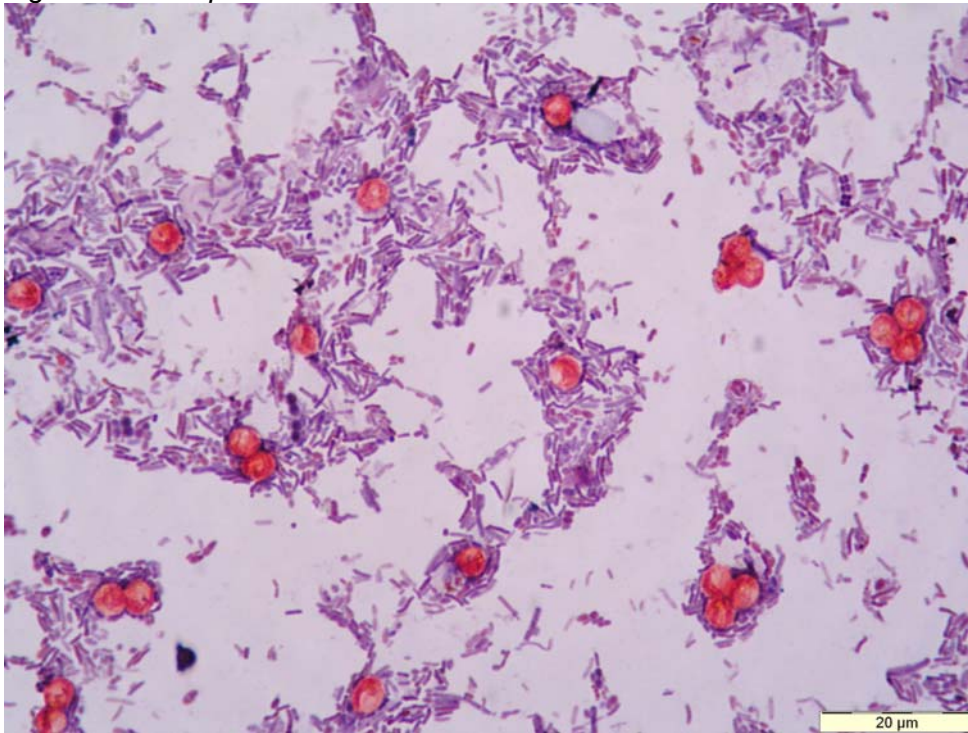
Figuur 5.2.3. *C. parvum*



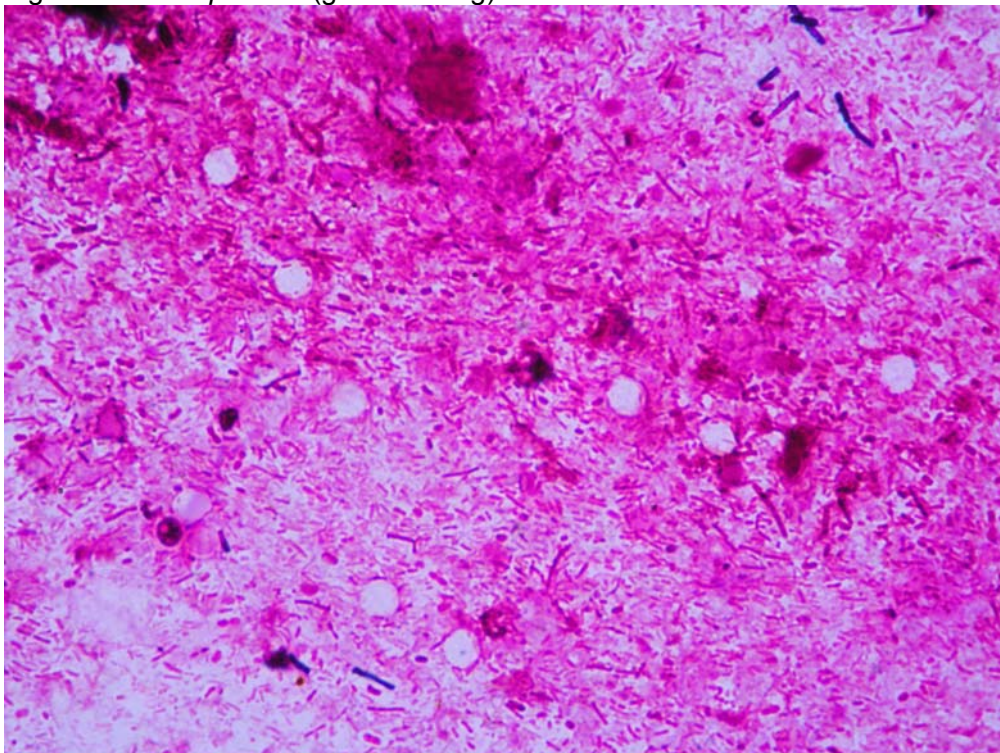
Figuur 5.2.4. *C. parvum*



Figuur 5.2.5. *C. parvum*



Figuur 5.2.6. *C. parvum* (gramkleuring)



5.3 Resultaten voor staal P/10974

De 163 laboratoria leverden 165 antwoorden in. Vier laboratoria antwoordden "Afwezigheid van parasieten", 157 laboratoria antwoordden één parasiet en twee laboratoria antwoordden 2 parasieten.

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven :

Tabel 5.3.1. Resultaten voor staal P/10974

Resultaat	Aantal
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	150
<i>Entamoeba coli</i>	4
<i>Cryptosporidium parvum</i>	2
<i>Endolimax nana</i>	2
<i>Entamoeba hartmanni</i>	2
<i>Entamoeba histolytica / dispar</i>	1
Afwezigheid van parasieten	4
Totaal	165

Eén laboratorium dat "*Cryptosporidium parvum*" antwoordde, heeft wellicht beide stalen verwisseld: het heeft immers voor staal P/10973 "*Cyclospora cayetanensis*" geantwoord; het andere labo dat "*Cryptosporidium parvum*" antwoordde, vond zowel *C. parvum* als *C. cayetanensis* terug.

De laboratoria die een combinatie van 2 parasieten geantwoord hebben, vermeldden respectievelijk volgende combinaties: "*Cyclospora cayetanensis* + *Cryptosporidium parvum*" en "*Endolimax nana* + *Entamoeba hartmanni*".

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Cyclospora cayetanensis* worden in tabel 5.3.2. weergegeven. Eén laboratorium vermeldde twee evolutiestadia (oöcyste en cyste).

Tabel 5.3.2. Evolutiestadia voor *Cyclospora cayetanensis* voor staal P/10974

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Oöcyste	140
Cyste	8
Ei	1
Hematofaag vegetatieve vorm	1
Niet gepreciseerd	1
Totaal	151

Achttien laboratoria zouden dit staal in routine doorsturen naar een referentiecentrum. Dit betreft allen laboratoria die *C. cayetanensis* geantwoord hebben.

Commentaar over Cyclospora cayetanensis

Cyclospora cayetanensis behoort tot de groep van de intestinale coccidia, meer bepaald tot het subphylum Apicomplexa en de familie Eimeriidae. De taxonomie was lang niet duidelijk. *Cyclospora* komt voor in Noord-, Centraal- en Zuid-Amerika, de Caraïben, Afrika, Zuidoost-Azië, Oost-Europa en Australië. In geïndustrialiseerde landen betreft het hoofdzakelijk importinfecties. Er zijn uitbraken beschreven met gecontamineerd voedsel, zoals in de VS, en met water als besmettingsbron.

Cyclospora is een obligaat intracellulaire parasiet. Er is geen vermenigvuldiging buiten de gastheer. De oöcysten bevatten sporocysten die op hun beurt sporozoïeten bevatten. De sporogonie treedt op buiten de gastheer. Het duurt 7-15 dagen voor oöcysten die uitgescheiden worden met de feces infectieus worden voor een nieuwe gastheer.

C. cayetanensis veroorzaakt langdurige diarree zowel bij gastheren met een normale afweer als bij aidspatiënten. De incubatietijd varieert van 1-7 dagen. De diarree, die tot 7 weken kan duren, is niet bloederig en gaat gepaard met gewichtsverlies, anorexie, een opgeblazen gevoel, krampen, algemeen onwel voelen en moeheid. Milde koorts is mogelijk. Bij aidspatiënten is de infectie heviger en kan ze nog langer aanslepen. Infecties zijn self-limiting. Ernstige infecties kunnen behandeld worden met trimethoprim-sulfamethoxazole. Asymptotisch dragerschap is zeldzaam.

De intermediaire levensstadia vinden plaats in het cytoplasma van de enterocyten in het duodenum en jejunum. Wat uitgescheiden wordt met de feces zijn niet-gesporuleerde oöcysten. Er wordt aangenomen dat *Cyclospora* gastheer specifiek is. Het reservoir is niet gekend. Er is geen evidentie voor directe besmetting van dier naar mens of mens naar mens.

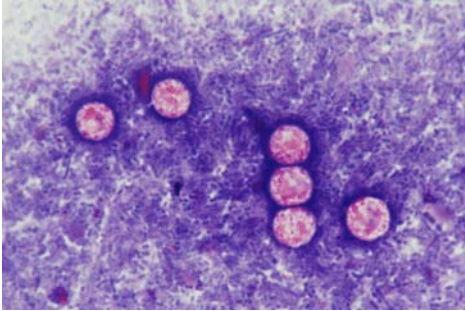
De diagnose wordt gesteld door detectie in de stoelgang van de perfect ronde oöcysten, 8-10 µm in diameter, met morula-achtige inclusies die sterk lichtbrekend zijn, en een duidelijke en gladde wand wat hen doet opvallen en het opsporen vergemakkelijkt. Concentratietechnieken zijn onontbeerlijk om ook minder ernstige infecties met voldoende hoge gevoeligheid op te sporen. In verse preparaten met lugol nemen de oöcysten de lugol meestal niet op. De oöcysten kleuren variabel zuurvast (sommige oöcysten nemen de zuurvaste kleuring niet op) wat de gevoeligheid van dit onderzoek niet ten goede komt. Hun zuurvaste eigenschap is van belang wanneer men zuurvaste kleuringen gebruikt voor de opsporing van *Cryptosporidium*, waarmee *Cyclospora* kan verward worden wanneer de vier sporozoïeten van *Cryptosporidium* niet goed te zien zijn in de oöcysten. Hetzelfde geldt wanneer men immunofluorescentie gebruikt voor het opsporen van *Cryptosporidium* en andere parasieten. De oöcysten van *Cyclospora* vertonen namelijk autofluorescentie bij een golflengte van 340-380 nm maar om dit te zien mogen de preparaten niet te dik zijn.

M. Van Esbroeck, ITG, Antwerpen

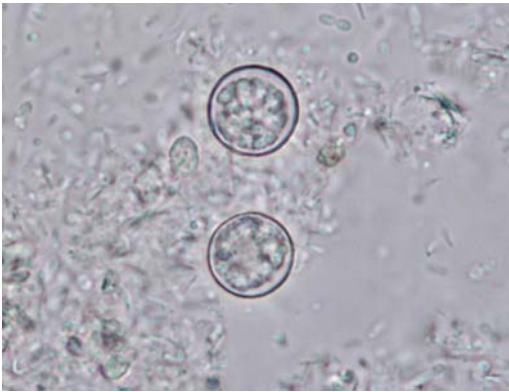
Referenties

1. Kansouzidou A, Charitidou C, Varnis T, Vavatsi N, Kamaria F. *Cyclospora cayetanensis* in a patient with travelers' diarrhea: case report and review. J Travel Med. 2004 Jan-Feb;11(1):61-3.
2. Manual of Clinical Microbiology. P. Murray. 8e editie. Hfst.134. *Cryptosporidium*, *Cyclospora* and *Isospora*. Y. Ortega et al.

Figuur 5.3.1. Ziehlkleuring



Figuur 5.3.2. *C. cayetanensis*



Figuur 5.3.3. *C. cayetanensis*



VI. Serologie

6.1. EBV

6.1.1 Informatie betreffende het verstuurde staal

Er werd 1 staal (IS/11067) rondgestuurd voor bepaling van de antistoffen tegen EBV. De laboratoria met even en oneven erkenningsnummer ontvingen onder ditzelfde staalnummer evenwel een verschillend staal.

Het staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

“Een student van 18 jaar heeft last van rillingen, lichte koorts, hoofdpijn, gebrek aan eetlust en uitgesproken vermoeidheid. Hij meldt zich bij de huisarts waar een bloedafname verricht wordt.”

De verwachte resultaten waren:

Even laboratoria: Heterofiele AS: negatief
 IgG (totaal, VCA, EBNA): negatief
 IgM (totaal, VCA): negatief
 Interpretatie: Negatieve EBV serologie (code 04)

Oneven laboratoria: Heterofiele AS: negatief
 IgG (totaal, VCA, EBNA): positief
 IgM (totaal, VCA): negatief
 Interpretatie: Serologie suggestief voor een vroeger
 doorgemaakte EBV infectie (code 03)

6.1.2. De deelnemers

154 klinische laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug: 88 met even erkenningsnummer en 66 met oneven erkenningsnummer.

Daarnaast voerden ook drie firmalaboratoria de testen uit. Ze gebruikten volgende kits:

- recomLine EBV IgG, recomLine EBV IgM en recomLine EBV IgA (Mikrogen, verdeler Euribel)
- Liaison VCA IgG, Liaison EBV IgM, Liaison EBNA IgG en Liaison EA IgG (DiaSorin)
- Epstein Barr virus capsid antige (EBV-CA) IgG Elisa, Epstein Barr virus capsid antige (EBV-CA) IgM Elisa, Epstein Barr virus nuclear antige (EBNA-1) IgG Elisa Epstein Barr virus, early antige (EBV-EA) IgG Elisa en Epstein Barr virus early antige (EBV-EA) IgM Elisa (Euroimmun, verdeler Biognost)

De 88 even laboratoria voerden 265 testen uit (47 heterofiele As, 9 totale IgG, 10 totale IgM, 57 VCA IgG, 14 VCA-EA IgG, 76 VCA IgM, 45 EBNA IgG, 6 EA IgG en 1 EA IgM). De 66 oneven laboratoria voerden 203 testen uit (48 heterofiele As, 6 totale IgG, 6 totale IgM, 37 VCA IgG, 9 VCA-EA IgG, 55 VCA IgM, 36 EBNA IgG, 5 EA IgG en 1 EA IgM). Een overzicht van het aantal en type bepalingen per laboratorium wordt in tabel 6.1.1 weergegeven.

Nota: de Enzygnost anti-EBV IgG en IgM kits geven een globale appreciatie van de IgG, respectievelijk IgM. De VIDAS VCA-EA IgG geeft een globale appreciatie van deze beide parameters zonder een onderscheid toe te laten.

Tabel 6.1.1. Combinaties van testen uitgevoerd door de deelnemers

Aantal testen	Parameter	Even laboratoria	Oneven laboratoria
1 test	Heterofiele AS	2	3
2 testen	Heterofiele AS + EBNA IgG	-	1
	VCA IgG + VCA IgM	14	7
	VCA-EA IgG + VCA IgM	3	2
	EBNA IgG + VCA IgM	1	1
	Totale IgG + Totale IgM	2	-
3 testen	Heterofiele AS + VCA IgG + VCA IgM	15	10
	Heterofiele AS + VCA-EA IgG + VCA IgM	3	3
	Heterofiele AS + Totale IgG + Totale IgM	4	5
	Heterofiele AS + EBNA IgG + VCA IgM	3	8
	Heterofiele AS + EBNA IgG + Totale IgM	1	-
	Heterofiele AS + EBNA IgG + EA IgM	-	1
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	9	7
	VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	6	-
	Totale IgG + Totale IgM + EBNA IgG	2	-
4 testen	Heterofiele AS + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	13	8
	Heterofiele AS + VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	2	4
	Heterofiele AS + Totale IgG + Totale IgM + EBNA IgG	1	1
	2 Heterofiele AS + VCA IgM + EBNA IgG	1	-
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	4	1
5 testen	Heterofiele AS + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	1	4
	IgG		
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG+ EA IgM	1	-
Totaal		88	66

6.1.3. Gebruikte reagentia

6.1.3.1. Heterofiele antistoffen

Tabel 6.1.2. Reagentia gebruikt ter bepaling van de heterofiele antistoffen

Fabrikant	Kit	Pare labo's	Onpare labo's
Alere Health (= Inverness Medical)	Clearview IM	30	34
Biokit	Monogen	5	3
bioMérieux	Monoslide test	1	-
Dipromed (verdelers International Medical)	Mononucleosis (Qualitative Rapid Test)	-	2
Fumouze	MNI-test Mononucleose	2	1
Meridian	Monospot	3	3
	Monospot Latex	3	-
Microgen (verdelers Lucron)	Infectious Mononucleosis Screening Reagent	-	1
Omega Diagnostics	Avitex IM	-	1
Plasmatec (verdelers Forlab)	IM Latex test kit	-	1
Servibio (verdelers Biognost)	Servitex MNI	2	-
Spinreact (verdelers Lameris)	IM Latex	-	1
Stanbio	Rapet IM	-	1
Thermo Scientific	Accutex Infectious Mononucleosis Latex	1	-
Totaal		47	48

6.1.3.2. IgG

Alle 15 bepalingen (9 pare labo's en 6 onpare) van de totale IgG gebeurden met de Enzygnost anti-EBV IgG kit (Siemens).

Alle 23 bepalingen (14 pare labo's en 9 onpare) van de VCA-EA IgG gebeurden met de VIDAS EBV VCA-EA IgG kit (bioMérieux).

Tabel 6.1.3. Reagentia gebruikt ter bepaling van de VCA EBV IgG

Fabrikant	Kit	Pare labo's	Onpare labo's
bioMérieux	VIDIA EBV VCA IgG	1	-
BioRad	Anti-EBV VCA IgG Elisa	1	1
Dia.Pro Diagnostic Bioproducts	EBV VCA IgG	1	-
DiaSorin	Liaison VCA IgG	30	20
	ETI-VCA-G	1	-
Diesse (verdelers International Medical)	Chorus Epstein Barr VCA IgG	5	2
Euroimmun (verdelers Biognost)	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgG Elisa	8	3
Genbio (verdelers BMD)	Immunowell EBV VCA IgG	-	1
Meridian	Merifluor EBV VCA IgG	1	3
	Premier EBV VCA IgG	2	-
Novatec (verdelers BMD)	EBV VCA IgG ELISA	2	1
Siemens	Immulite EBV VCA IgG	4	5
	Novagnost anti EBV IgG	1	1
Totaal		57	37

Tabel 6.1.4. Reagentia gebruikt ter bepaling van de EBNA EBV IgG

Fabrikant	Kit	Pare labo's	Onpare labo's
bioMérieux	VIDAS EBV EBNA IgG	10	10
BioRad	Anti-EBV EBNA IgG Elisa	1	2
Dia.Pro Diagnostic Bioproducts	EBV EBNA IgG	1	-
DiaSorin	Liaison EBNA IgG	20	15
Diesse (verdelers International Medical)	Chorus Epstein Barr EBNA IgG	4	1
Euroimmun (verdelers Biognost)	Epstein Barr virus nuclear antigen (EBNA-1) IgG Elisa	4	3
	Epstein Barr virus nuclear antigen (EBNA) IgG IFA	-	1
Genbio (verdelers BMD)	Immunowell EBNA IgG	1	-
Novatec (verdelers BMD)	EBV EBNA IgG ELISA	1	-
Siemens	Immulite EBV EBNA IgG	-	4
	Novagnost EBV EBNA IgG	3	-
Totaal		45	46

Tabel 6.1.5. Reagentia gebruikt ter bepaling van de EA EBV IgG

Fabrikant	Kit	Pare labo's	Onpare labo's
DiaSorin	Liaison EA IgG	4	4
Diesse (verdelers International Medical)	Chorus Epstein Barr EA IgG	1	-
Euroimmun (verdelers Biognost)	Epstein Barr virus early antigen (EBV-EA) IgG Elisa	1	-
	Epstein Barr virus early antigen (EBV-EA) IgG IFA	-	1
Totaal		6	5

6.1.3.3. IgM

Alle 16 bepalingen (10 pare labo's en 6 onpare) van de totale IgM gebeurden met de Enzygnost anti-EBV IgM II kit (Siemens).

Tabel 6.1.6. Reagentia gebruikt ter bepaling van de EBV VCA IgM

Fabrikant	Kit	Pare labo's	Onpare labo's
bioMérieux	VIDAS EBV VCA IgM	14	13
	VIDIA EBV VCA IgM	1	-
BioRad	Anti-EBV VCA IgM Elisa	2	1
Dia.Pro Diagnostic Bioproducts	EBV VCA IgM	1	-
DiaSorin	Liaison EBV IgM	32	22
Diesse (verdeler International Medical)	Chorus Epstein Barr VCA IgM	5	2
Euroimmun (verdeler Biognost)	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgM Elisa	9	4
Genbio (verdeler BMD)	Immunowell EBV VCA IgM	1	1
Meridian	Merifluor EBV VCA IgM	1	2
	Premier EBV VCA IgM	2	-
Novatec (verdeler BMD)	EBV VCA IgM ELISA	3	1
Siemens	Immulite EBV VCA IgM	4	8
	Novagnost anti EBV IgM	1	1
Totaal		76	55

De bepalingen van de EA IgM gebeurden met de Chorus Epstein Barr EA IgM (Diesse, verdeler International Medical) (paar laboratorium) en de Anti-EBV EA IgM Elisa (BioRad) (onpaar laboratorium).

6.1.4. Resultaten

6.1.4.1. Even laboratoria

Heterofiele antistoffen

43 laboratoria bekwamen een negatief resultaat (het laboratorium dat deze test met 2 verschillende technieken uitvoerde, bekwam met beide een negatief resultaat), twee laboratoria een borderline resultaat en één laboratorium antwoordde dat de interpretatie niet mogelijk was.

IgG

Alle resultaten voor de IgG, ongeacht de aard van deze IgG, waren negatief.

IgM

Alle resultaten voor de IgM, ongeacht de aard van deze IgM, waren negatief.

Interpretaties

De meeste laboratoria kozen voor de interpretatie: "Negatieve EBV serologie" (code 04). Een overzicht van de interpretaties wordt in onderstaande tabel 6.1.7. weergegeven:

Tabel 6.1.7. Interpretatie door de even laboratoria

Interpretatie	Labos pairs
Negatieve EBV serologie (code 4).	86
Borderline positieve heterofiele As, om een beginnende EBV-infectie uit te sluiten is een nieuwe staalname vereist ¹	1
Geen interpretatie ²	1
Totaal	88

¹ Interpretatie verstrekt door een laboratorium dat heterofiele As (borderline), VCA IgG, VCA IgM en EBNA IgG (de laatste 3 allen negatief) bepaalde.

² Interpretatie verstrekt door een laboratorium dat enkel heterofiele As (negatief) bepaalde.

6.1.4.2. Oneven laboratoria

Heterofiele antistoffen

47 laboratoria bekwamen een negatief resultaat; één laboratorium een positief.

IgG

Totale IgG

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat.

Een overzicht van de kwantitatieve resultaten vindt u in tabel 6.1.8.

Tabel 6.1.8. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor Enzygnost anti-EBV IgG voor de oneven laboratoria.

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off voor positiviteit
Enzygnost anti-EBV IgG (U/mL)	6	162	126	201	*

* De cutoff voor Enzygnost EBV IgG is 0.200 in OD waarde. Voor ieder nieuw lot Enzygnost EBV IgG wordt met behulp van een dertigtal titratiecurves, de mastercurve bepaald die gekenmerkt wordt door een eigen Alpha waarde en Beta waarde. Bovendien wordt in de productie faciliteiten van Marburg een positieve controle afgelezen op deze curve en vermeld in de bijsluiters van de kit. Op het BEP 2000 platform (ELISA processor) en het BEP III platform wordt in het lot management systeem deze specifieke waarden ingegeven en de bekomen optische densiteiten (OD) omgezet naar U/mL met de formule: $\text{LOG Titer} = \text{Alpha} \times (\text{OD gecorrigeerd})^{\text{Beta}}$. Gezien de mastercurve van lot tot lot kan verschillen wordt er geen cutoff waarde in U/mL medegedeeld in de bijsluiters. De klinische evaluatie gebeurt op 0.200 OD (er is geen grijze zone). Voor de 2 recente loten (38844 en 39145) werden de overeenkomstige U/mL waarden voor de cutoff (0.200 OD) berekend. Deze waarden van de cutoff's dicht bij elkaar maar zijn niet dezelfde waarden: voor lot 38844: cutoff= 47 U/mL en voor lot 39148 cutoff: 50 U/mL.

VCA IgG

35 laboratoria bekwamen een positief resultaat en twee een negatief resultaat. Voor één van deze beide laatste stelt zich de vraag of er geen overschrijffout gebeurde bij het invullen van de resultaten: voor de VCA IgM antwoordde dit laboratorium immers positief.

Voor 1 kit met een voldoende aantal deelnemers hebben wij mediaan, minimum en maximum berekend. Deze resultaten worden weergegeven in tabel 6.1.9.

Tabel 6.1.9. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor de meest gebruikte kit voor VCA IgG voor staal IS/11067 (oneven laboratoria).

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off voor positiviteit
Liaison VCA IgG (U/mL)	20	403	291	590	20

VCA-EA IgG

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat.
Een overzicht van de kwantitatieve resultaten vindt u in tabel 6.1.10.

Tabel 6.1.10. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor VIDAS EBV VCA/EA IgG voor staal IS/11067 voor de oneven laboratoria.

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off voor positiviteit
VIDAS EBV VCA/EA IgG (index)	7	3.37	3.10	3.92	0.21

EBNA IgG

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat.

Voor de meest gebruikte kits, hebben we, voor zover de laboratoria het kwantitatief resultaat geantwoord hebben, de mediaan, minimum en maximum berekend. Deze resultaten worden weergegeven in tabel 6.1.11.

Tabel 6.1.11. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor EBNA IgG voor staal IS/11067 voor de meest gebruikte kits (oneven laboratoria).

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off voor positiviteit
VIDAS EBV EBNA IgG (index)	9	2.14	2.00	2.38	0.21
Liaison EBNA IgG (U/mL)	15	94.2	84.9	105.0	20

EA IgG

Drie laboratoria bekwamen een negatief resultaat en twee een borderline.

IgM

Totale IgM

Alle laboratoria die deze test uitvoerden bekwamen een negatief resultaat.

VCA IgM

54 laboratoria die deze test uitvoerden bekwamen een negatief resultaat en één een positief (dit betreft het laboratorium dat reeds onder de resultaten van de VCA IgG vermeld werd).

EA IgM

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

Interpretaties

De meeste laboratoria kozen voor de interpretatie: "Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie" (code 03).

Een overzicht van de interpretaties wordt in onderstaande tabel 6.1.12. weergegeven:

Tabel 6.1.12. Interpretatie door de oneven laboratoria

Interpretatie	N labos
Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie (code 3).	60
Negatieve EBV serologie (code 4). ¹	3
Positieve reactie in de IgM assay voor EBV; om een primaire EBV-infectie uit te sluiten is een bevestiging nodig door bijkomende testen (met name GOT/GPT, lymfocyttaire formule, R = T, Paul-Bunnel-Davidson) (code 002). ²	1
Naast test voor heterofiele AS, specifieke EBV-serologie: EBV IgM, EBV IgG, EBNA IgG. ³	1
Verworven immuniteit. ⁴	1
Totaal	66

¹ Twee van deze interpretaties werden verstrekt door laboratoria die enkel heterofiele As (negatief) bepaalden. De derde kwam van een laboratorium dat heterofiele As, VCA IgG en VCA IgM (allen negatief) bepaalde.

² Interpretatie verstrekt door het laboratorium dat VCA IgG negatief en VCA IgM positief antwoordde.

³ Interpretatie verstrekt door een laboratorium dat enkel heterofiele As (negatief) bepaalde.

⁴ Interpretatie verstrekt door een laboratorium dat heterofiele As (negatief), VCA IgG (positief), VCA IgM (negatief) en EBNA IgG (positief) bepaalde.

6.1.5. Commentaar op de enquête

De bepaling van de verschillende serologische parameters voor EBV stelde op zich weinig problemen. Op enkele uitzonderingen na (en opnieuw een fout mogelijk te wijten aan overschrijfproblemen) stemden de antwoorden overeen met de te verwachten resultaten. Ook de interpretatie stelde weinig problemen. Hier dient toch de opmerking gemaakt te worden dat sommige laboratoria, die enkel heterofiele antilichamen bepaalden, als interpretatie “negatieve EBV serologie” gaven. Een dergelijke interpretatie op basis van de bepaling van heterofiele antilichamen alleen is natuurlijk niet correct. Zoals gekend is zowel de specificiteit als de sensitiviteit van heterofiele antilichamen niet van die aard dat hieruit een dergelijk besluit kan volgen. Aanwezigheid van heterofiele antistoffen, indien aangevraagd in de gepaste klinische setting, is “vrij” specifiek voor een acute EBV infectie, maar de gevoeligheid is eerder laag, zeker bij kinderen. Tien tot 50% van kinderen < 5 jaar zijn niet in staat om heterofiele antilichamen te produceren, en ook bij adolescenten en volwassenen (zeker bij ouderen) is de sensitiviteit niet 100%. Vals positieve heterofiele antistoffen kunnen teruggevonden worden bij patiënten met leukemie, lymfoom, Rubella infectie,... Ook kunnen heterofiele antistoffen soms vrij lang persisteren.

Wat de meer specifieke bepalingen betreft, volstaat bij de meeste immunocompetente personen de bepaling van 3 serologische parameters voor de interpretatie van de EBV serologie: VCA IgM (Viral Capsid Antigen) VCA IgG, en EBNA-1 IgG (Epstein Barr Nuclear Antigen). De aanwezigheid van EBNA-1 antilichamen sluit een recente primaire infectie definitief uit. Maar niet alle individuen produceren EBNA-1 IgG en bovendien kunnen EBNA-1 IgG opnieuw verloren gaan.

Een EBV primo-infectie wordt gekenmerkt door het vroeg verschijnen van anti-VCA IgM. Wanneer de anti-VCA-IgG verschijnen, nemen de anti-VCA IgM af tot volledige verdwijning. De anti-VCA-IgG blijven in immunocompetente personen levenslang aanwezig. Een voorbijge EBV-infectie wordt gekenmerkt door de afwezigheid van anti-VCA IgM en de aanwezigheid van IgG tegen zowel VCA als EBNA.

Hierbij ook nog eens de tabel voor de interpretatie van de verschillende serologische parameters (die ook reeds bij een vorige bespreking werd meegegeven).

Table 1. Interpretation of EBV-specific serological profiles for diagnosis

Atypical lymphocytes	Heterophile antibodies	VCA IgG	VCA IgM	EBNA-1 IgG	Interpretation
-	-	-	-	-	No infection
+/-	+/-	+	+	-	Acute infection
-	-	+	-	+	Past infection
-	-	+	+	+	Past infection most probable
+/-	+/-	+	-	-	Past infection**
-	-	-	+	-	Undetermined*
-	-	-	-	+	Impossible***

* Follow-up serum necessary to evidence seroconversion IgG (early phase infection)

** Additional testing could be useful in specific circumstances, e.g. VCA-IgG avidity testing, Western blotting, or PCR

*** Exceptionally when used in combination with an insensitive VCA-IgG test

De verwachte interpretatie “negatieve EBV serologie” voor de even laboratoria, werd door de overgrote meerderheid correct geantwoord. Enkel een laboratorium dat alleen heterofiele antistoffen bepaalde, gaf correct aan dat er geen interpretatie mogelijk is en 1 laboratorium dat een twijfelachtig resultaat voor de heterofiele antistoffen rapporteerde, suggereerde een nieuwe staalname om een beginnende EBV-infectie uit te sluiten. Bij de oneven laboratoria kozen 2 laboratoria die enkel heterofiele antistoffen bepaalden, toch voor de interpretatie “negatieve EBV serologie”, wat, zoals hierboven reeds vermeld, niet mogelijk is op basis van enkel deze bepaling. De meeste laboratoria gaven de correcte interpretatie “serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte infectie”.

An Boel, OLVZ Aalst

Referenties

8. Hess, RD. 2004. Routine Epstein-Barr Virus Diagnostics from the laboratory Perspective: Still Challenging after 35 Years. *J Clin Microbiol.* 42:3381-87.
9. Gärtner, BC et al. 2003. Evaluation of four commercially available Epstein-Barr virus enzyme immunoassays with an immunofluorescence assay as the reference method. *Clin Diagn Lab Immunol.* 10:78-82.
10. Up To Date 2011,19.1.

6.2. Rubella

6.2.1. Het staal

Er werd 1 staal (IS/11068) rondgestuurd voor bepaling van de antistoffen tegen Rubella. De laboratoria met even en oneven erkenningsnummer ontvingen onder hetzelfde staalnummer evenwel een verschillend staal.

Het staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

“Een jonge dame, die niet gevaccineerd werd in haar jeugd, meldt zich bij de arts met rash en koorts.”

De verwachte resultaten waren :

Even laboratoria : IgG positief
 IgM negatief
 Interpretatie: Immuniteit (code 02)

Oneven laboratoria : IgG positief
 IgM borderline tot positief
 Interpretatie: Mogelijkheid van een recente infectie (code 03)

6.2.2. De deelnemers

153 klinische laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug: 89 laboratoria met even erkenningsnummer en 64 met oneven erkenningsnummer.

Daarnaast voerden ook drie firmalaboratoria de testen uit met correcte resultaten in alle gevallen. Ze gebruikten volgende kits:

- recomBlot Rubella IgG (Mikrogen, verdeler Euribel)
- Liaison Rubella IgG en Liaison Rubella IgM (DiaSorin)
- Rubella virus IgG Elisa, Rubella virus IgM Elisa en Rubella virus avidity determination IgG Elisa (Euroimmun, verdeler Biognost)

Laboratoria met even erkenningsnummer

6 laboratoria voerden 1 test uit, 82 laboratoria voerden 2 testen uit en 1 laboratorium 4 testen. In totaal voerden deze laboratoria dus 174 testen uit.

Alle laboratoria die 1 test uitvoerden bepaalden de IgG antistoffen. De 82 laboratoria die 2 bepalingen uitvoerden bepaalden IgG en IgM; het laboratorium dat 4 bepalingen uitvoerde bepaalde 2 maal IgG en 2 maal IgM (met verschillende methoden). In totaal werden dus 90 bepalingen van IgG en 84 van IgM uitgevoerd.

Laboratoria met oneven erkenningsnummer

5 laboratoria voerden 1 test uit, 53 laboratoria voerden 2 testen uit en 6 laboratoria 3 testen. In totaal voerden deze laboratoria dus 129 testen uit.

Vier laboratoria die 1 test uitvoerden, bepaalden de IgG en 1 de totale antistoffen. De 53 laboratoria die 2 bepalingen uitvoerden bepaalden IgG en IgM; de 6 laboratoria die 3 bepalingen uitvoerden bepaalden IgG en 2 maal IgM (met verschillende methoden). In totaal werden dus 1 bepaling van de totale antistoffen, 63 bepalingen van IgG en 65 van IgM uitgevoerd.

6.2.3. Gebruikte reagentia

Voor de Totale antistoffen

Het laboratorium dat de totale antistoffen bepaalde, gebruikte hiervoor de Rubella hemagglutinatie inhibitie kit van Siemens.

Voor de IgG

Tabel 6.2.1.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van Rubella IgG.

Fabrikant	Kit	Pare labo's	Onpare labo's
Abbott	Architect Rubella IgG	19	20
	AxSYM Rubella IgG	8	6
Beckman (verdelers Analis)	Unicel DXi Rubella IgG	7	2
	Access Rubella IgG	5	3
bioMérieux	VIDAS Rub IgG II	8	11
	VIDIA Rub IgG	1	-
Diasorin	Liaison Rubella IgG	16	9
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros immunodiagnostic products Rubella IgG	3	3
Roche	Cobas Rubella IgG	7	1
	Modular Rubella IgG	4	2
	Elecsys Rubella IgG	2	-
Siemens	ADVIA Centaur Rubella IgG	5	3
	Immulite Rubella IgG	5	3
Totaal		90	63

Voor IgM

Tabel 6.2.2.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van Rubella IgM.

Fabrikant	Kit	Pare labo's	Onpare labo's
Abbott	Architect Rubella IgM	19	19
	AxSYM Rubella IgM	7	6
Beckman (verdelers Analis)	Unicel DXi Rubella IgM	6	2
	Access Rubella IgM	5	3
bioMérieux	VIDAS Rub IgM	10	15
	VIDIA Rub IgM	1	-
Diasorin	Liaison Rubella IgM	16	9
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros immunodiagnostic products Rubella IgM	2	3
Roche	Cobas Rubella IgM	5	1
	Modular Rubella IgM	2	2
	Elecsys Rubella IgM	2	-
Siemens	ADVIA Centaur Rubella IgM	4	3
	Immulite Rubella IgM	5	2
Totaal		84	65

6.2.4. Resultaten

6.2.4.1 Even laboratoria

IgG

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat. Het labo dat 2 verschillende technieken gebruikte, bekwam met beiden een positief resultaat.

Voor de kits met een voldoende aantal gebruikers hebben wij de mediaan, minimum en maximum berekend. U vindt deze gegevens in tabel 6.2.3.

Tabel 6.2.3. Mediaan, minimum en maximum bekomen door de even laboratoria voor IgG voor staal IS/11068.

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cutt-off
Architect Rubella IgG (IU/mL)	19	43.9	35.5	54.0	10.0
AxSYM Rubella IgG (IU/mL)	8	71.1	28.0	89.4	10.0
Unicel DXi Rubella IgG (IU/mL)	7	74.4	56.6	100.0	15.0
VIDAS Rub IgG II (IU/mL)	8	78.5	64.0	93.0	15.0
Liaison Rubella IgG (IU/mL)	16	32.5	25.1	40.8	10.0
Cobas Rubella IgG (IU/mL)	7	158.8	148.4	166.0	10.0

IgM

Een overzicht van de resultaten wordt in tabel 6.2.4. weergegeven.

Tabel 6.2.4.: Resultaten van Rubella IgM voor staal IS/11068 (even laboratoria).

Resultaat	N lao's
Negatief	78
Positief	3
Borderline	2
Totaal	83

Het laboratorium dat de IgM met 2 technieken bepaalde, bekwam met beide een negatief resultaat.

De drie positieve resultaten en één borderline resultaat werden bekomen met de kit Immulite Rubella IgM. De firma Siemens werd hierover gecontacteerd en bezorgde ons na onderzoek van het staal het volgende besluit:

“Results for this sample on L2KRM kit lot 211 are similar to those on kit lot 210 with nonreactive results after treatment with HBT indicating the results were affected by heterophilic interference”.

HBT (“Heterophile blocking tubes”) zijn reagentia die interferentie door heterofiele antistoffen (“heterophilic antibodies”) beletten. Heterofiele antistoffen zijn endogene antistoffen die aangetroffen worden in serum/plasma van patiënten en die kunnen binden aan immuunglobulinen van andere species, met inbegrip van species die gebruikt worden voor de productie van antistoffen die als reagentia voor immunoassays dienen. Deze antistoffen kunnen interfereren in immunoassays en veroorzaken aldus een foutieve stijging van de gemeten waarde die onafhankelijk is van de echte concentratie van de gemeten analyte, met misclassificatie van het staal tot gevolg.

Interpretatie

Een overzicht van de interpretaties wordt weergegeven in tabel 6.2.5.

Tabel 6.2.5. Interpretaties voor staal IS/11068 (even laboratoria).

Interpretatie	Aantal laboratoria
Immuniteit (code 002)	76
Immuniteit indien IgM negatief ¹	1
Waarschijnlijk immuniteit door eerder doorgemaakte infectie ²	1
Aanwezigheid van IgG (IgM wordt niet uitgevoerd). Indien IgM negatief:→ code 002 (immuniteit); indien IgM positief:→code 003:→bevestigen via aviditeit ³	1
Geen immuniteit (code 001) ⁴	2
Mogelijkheid van een recente infectie (code 003) ⁵	7
Geen interpretatie ⁶	1
Totaal	89

¹ Dit laboratorium bepaalde enkel de IgG (positief).

² Dit laboratorium bepaalde de IgG (positief) en IgM (negatief).

³ Dit laboratorium bepaalde enkel de IgG (positief).

⁴ Deze beide laboratoria bepaalden de IgG (positief) en IgM (negatief).

⁵ Drie van deze laboratoria bekwamen positieve resultaten voor de IgG en IgM. Twee bekwamen een positief resultaat voor de IgG en een borderline voor de IgM. Twee bepaalden enkel de IgG (positief) maar vermeldden dat de IgM bepaald zouden moeten worden.

⁶ Eén laboratorium heeft de interpretatie opengelaten; het bekwam een positief resultaat voor de IgG en een negatief voor de IgM.

De opmerkingen gegeven door de laboratoria die interpretatiecode 2 antwoordden, worden weergegeven in tabel 6.2.6

Tabel 6.2.6. Opmerkingen gegeven door de laboratoria die de interpretatiecode 2 gaven voor staal IS/11068 (even laboratoria).

Opmerking	Aantal laboratoria
Een bevestiging is niet nodig	53
Een bevestiging is aangewezen via een nieuwe afname	4
Een bevestiging is aangewezen via bijkomende testen (mazelen, parvovirus B19)	1
HCG bepaling indien onduidelijkheid over zwangerschap: zo +: IgM bepaling; zo -: geen verdere analyse	1
Totaal	59

6.2.4.2 Oneven laboratoria

Totale antistoffen

Het laboratorium dat de totale antistoffen bepaalde, vond deze positief.

IgG

De resultaten van de IgG bepaling zijn weergegeven in tabel 6.2.7.

Tabel 6.2.7.: Resultaten van Rubella IgG voor staal IS/11068 (oneven laboratoria)

Resultaat	N lao's
Positief	61
Borderline	2
Totaal	63

Voor de kits met een voldoende aantal gebruikers hebben wij de mediaan, minimum en maximum berekend. U vindt deze gegevens in tabel 6.2.8.

Tabel 6.2.8. Mediaan, minimum en maximum bekomen door de oneven laboratoria voor IgG voor staal IS/11068.

Kit (eenheid)	N lao's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cutt-off
Architect Rubella IgG (IU/mL)	20	29.0	25.4	42.4	10.0
AxSYM Rubella IgG (IU/mL)	6	31.0	24.2	40.0	10.0
VIDAS Rub IgG II (IU/mL)	11	33.0	29.0	38.0	15.0
Liaison Rubella IgG (IU/mL)	9	14.8	11.1	18.0	10.0

IgM

Het overzicht van de resultaten van de IgM wordt weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.2.9.: Resultaten van Rubella IgM voor staal IS/11068 (oneven laboratoria)

Resultaat	N lao's
Positief ¹	33
Positief/borderline ¹	2
Positief/negatief ¹	1
Borderline	19
Negatief	3
Geen kwalitatief resultaat ²	1
Totaal	59

¹ Drie van de laboratoria die 2 technieken gebruikten, bekwamen met beide een positief resultaat; de overige drie bekwamen verschillende resultaten met beide technieken.

² Eén laboratorium gaf wel het kwantitatieve resultaat weer (index 0.93 bekomen met de ADVIA Centaur Rubella IgM) maar liet de kwalitatieve interpretatie hiervan open.

Voor de kits met een voldoende aantal gebruikers hebben wij de mediaan, minimum en maximum berekend. U vindt deze gegevens in tabel 6.2.10. weergegeven in functie van het kwalitatieve resultaat.

Tabel 6.2.10. Mediaan, minimum en maximum bekomen door de oneven laboratoria voor IgM voor staal IS/11068.

Kit (eenheid)	Kwalitatief resultaat	N labo's	Resultaat	Minimum	Maximum	N labos	Cutt-off
Architect Rubella IgM (index)							<1.20 = niet-reactief; 1.20 - 1.60 = grijze zone; ≥ 1.60 = reactief
	+	1	1.27				
	±	16		1.33	0.66	1.41	
AxSYM Rubella IgM (index)	-	2	0.56 en 1.29				
	±	4		0.688	0.670	0.760	<0.600 = niet-reactief; 0.600 – 0.799 = grijze zone; ≥ 0.800 = reactief
	-	2	0.578 en 0.597				
VIDAS Rub IgM (index)							<0.8 = niet-reactief; 0.8 – 1.2 = grijze zone; ≥ 1.2 = reactief
	+	15		2.12	1.92	2.35	
Liaison Rubella IgM (au/mL)							<20 = negatief; 20 – 25 = grijze zone; ≥ 25 = positief
	+	8		32.8	29.3	37.7	
	±	1	21.3				

Interpretatie

Een overzicht van de interpretaties wordt weergegeven in tabel 6.2.11.

Tabel 6.2.11. Interpretaties voor staal IS/11068 (oneven laboratoria).

Interpretatie	Aantal laboratoria
Mogelijkheid van een recente infectie (code 003)	54
Immuniteit (code 002) of Mogelijkheid van een recente infectie (code 003) als IgM positief zijn ¹	1
Immuniteit (code 002) ²	5
Immuniteit na oude infectie (restwaarde IgM). Rash = begin van de ziekte→hoge IgM + lage IgG) ³	1
Waarschijnlijke immuniteit? Gezien het borderline karakter van de IgM, moet de serologie gecontroleerd worden op een nieuwe afname ⁴	1
Positief ⁵	1
Geen interpretatie ⁶	1
Totaal	64

¹ Dit laboratorium bepaalde enkel de IgG (positief).

² Twee van deze laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de IgG en een negatief voor de IgM. Twee bekwamen een positief resultaat voor de IgG en een borderline voor de IgM. Eén laboratorium bekwam een positief resultaat voor de IgG en gaf de kwalitatieve interpretatie voor de IgM niet weer.

³ Dit laboratorium bekwam een positief resultaat voor de IgG en een borderline voor de IgM.

⁴ Dit laboratorium bekwam een positief resultaat voor de IgG en een borderline voor de IgM.

⁵ Dit laboratorium bekwam positieve resultaten voor de IgG en IgM.

⁶ Eén laboratorium heeft de interpretatie opengelaten; het bekwam een positief resultaat voor de IgG

De opmerkingen gegeven door de laboratoria die interpretatiecode 3 antwoordden, worden weergegeven in tabel 6.2.12

Tabel 6.2.12. Opmerkingen gegeven door de laboratoria die de interpretatiecode 3 gaven voor staal IS/11068 (oneven laboratoria).

Opmerking	Aantal laboratoria
Een bevestiging is aangewezen via een nieuwe afname	29
Een bevestiging is aangewezen via bijkomende testen	8
Een bevestiging is aangewezen via bijkomende testen en via een nieuwe afname	6
Een bevestiging is aangewezen via een nieuwe afname en WIV: band E2 via immunoblot	1
Een bevestiging is niet nodig	4
Navragen zwangerschap? Zo ja overleg gynaecoloog + eventueel controle met andere techniek	1
Totaal	49

De bijkomende testen die aangeraden worden, worden weergegeven in tabel 6.2.13

Tabel 6.2.13. Aangeraden bijkomende testen voor staal IS/11068 (oneven laboratoria)

Aangeraden test	Aantal laboratoria
Rubella IgM (= labo's die enkel IgG bepalen)	3
Confirmatie van Rubella IgM met andere techniek	3
Confirmatie van Rubella IgM met immunoblot	1
Confirmatie van Rubella IgM met andere techniek en aviditeit	1
Recomblot Rubella IgG	1
PCR	1
2 ^e techniek	1
Aviditeit	2
Zwangerschapstest en indien positief: Rubella IgG E2	1
Totaal	14

6.2.5. Rubella: Commentaar op de enquête

Er werd 1 staal rondgestuurd (de laboratoria met even en oneven erkenningsnummer ontvingen onder hetzelfde staalnummer evenwel een verschillend staal). Het staal werd vergezeld met de volgende klinische informatie: “een jonge dame, die niet gevaccineerd werd in haar jeugd, meldt zich bij de arts met rash en koorts”.

Staal S/11068, even laboratoria

Zowel de analytische bepalingen als interpretaties stelden geen noemenswaardige problemen bij het overgrote deel van deelnemers voor dit staal positief voor IgG en negatief voor IgM. De grote spreiding in de analytische waarden afhankelijk van het instrument in gebruik komt tot uiting bij IgG bepalingen. Ondanks het gebruik van Internationale Eenheden (Units) (IU/ml) moet men rekening houden met het feit dat ze gestandaardiseerd zijn tegenover verscheidene WHO standaarden wat de onderlinge vergelijking van analytische resultaten tussen bepalingen op verschillende toestellen onmogelijk maakt. De observatie dat 4 van 5 niet-negatieve (positieve en borderline) resultaten voor IgM zijn bekomen met de kit van Immulite Rubella IgM dient verder onderzocht en verklaard te worden door producent Siemens. De te verkiezen interpretatie “immuniteit” werd gegeven door 85% (76 van 89) laboratoria die hun enquêteformulier terug hebben gestuurd. Het is eveneens correct dat het uitsluiten van recente infectie niet mogelijk is indien enkel IgG uitgevoerd is geweest zonder kennis van IgM. De interpretatie “geen immuniteit” bij analytische positiviteit van IgG en negativiteit van IgM kan niet als correct beschouwd worden. Het uitvoeren van Rubella IgG aviditeitsbepaling bij mogelijks positief IgM resultaat (enkel IgG uitgevoerd door het betreffende laboratorium) kan in deze klinische context niet aangeraden worden: IgG aviditeitsbepalingen dienen eerder voor de datering van de infectie wat vooral van belang is in de vroege zwangerschap. Een andere manier om de recente Rubella infectie te dateren is het aantonen van anti-E2 IgGs via immunoblotting: deze IgG's gericht tegen enveloppe glycoproteïne E2 verschijnen 3-4 maanden na primaire Rubella infectie. Het is correct dat het belang van Rubella infecties bij volwassenen zich voornamelijk situeert bij de preventie van het Congenitaal Rubella Syndroom. Maar gezien Rubella een zeldzaam ziektebeeld is geworden in België dankzij wijdverspreide vaccinatie, dient het nut van IgM bepaling bij suggestief klinisch beeld, zoals in het huidige voorbeeld, buiten de zwangerschap onderstreept te worden.

Staal S/11068, oneven laboratoria

De resultaten voor IgG bepalingen stellen ook voor dit staal geen problemen: 97% (61 van 63) van laboratoria die hun enquêteformulier terug hebben gestuurd bekwamen een positief resultaat. 91.5% (54 van 59) van laboratoria die hun enquêteformulier terug hebben gestuurd, bekwamen een niet-negatief (positief en borderline) resultaat voor IgM. Het is belangrijk om recente infectie te bevestigen door minstens één van de volgende mogelijkheden: a) het confirmeren van een positieve IgM test met een andere analytische methode, bij voorkeur in het Nationaal Referentielaboratorium voor Mazelen en Rubella; b) het aantonen van evolutieve serologie onder vorm van significante titerstijging op de nieuwe afname 1-2 weken na de oorspronkelijke bepaling (met dezelfde methode); c) door het aantonen van de afwezigheid van hoog aviede antistoffen/anti-E2 IgG's indien het dateren van infectie belangrijk is (zie bespreking hoger). Het is belangrijk om op te merken dat in de huidige klinische context de

waarschijnlijkheid van rubella infectie groot is wat de positief predictieve waarde van de positieve IgM test verhoogt.

Elizaveta Padalko
UZ Gent

Referenties

11. [Wandinger KP](#), [Saschenbrecker S](#), [Steinhagen K](#), [Scheper T](#), [Meyer W](#), [Bartelt U](#), [Enders G](#). Diagnosis of recent primary rubella virus infections: Significance of glycoprotein-based IgM serology, IgG avidity and immunoblot analysis. [J Virol Methods](#).
12. [Fölster-Holst R](#), [Kreth HW](#). Viral exanthems in childhood--infectious (direct) exanthems. Part 1: Classic exanthems. [J Dtsch Dermatol Ges](#). 2009 Apr;7(4):309-16.
13. Lennette E.H.n Smith T.F. Laboratory Diagnosis of Viral Infections. 3rd edition, 1999, Marcel Dekker Inc.

6.3. Legionella antigen

6.3.1. De monsters

Er werden 2 urinestalen (Ag/6792 en Ag/11069) rondgestuurd waarop de bepaling van het Legionella-antigen gevraagd werd. Staal Ag/6792 was negatief en staal Ag/11069 was positief. Staal Ag/11069 werd reeds verstuurd in de EKE 2010/2 onder staalnummer Ag/10093.

6.3.2. De deelnemers

In het totaal stuurden 79 laboratoria hun antwoordformulier terug. 78 laboratoria voerden 1 test uit en 1 laboratorium 2 testen.

6.3.3. Gebruikte reagentia

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

Tabel 6.3.1. Reagentia gebruikt voor de bepaling van het Legionella antigen.

Fabrikant	Reagens	Ag/6792	Ag/11069
Alere Health (Inverness Medical)	Binax Now Legionella Urinary Ag test	63	63
Biorad	Legionella Urine Antigen EIA	1	1
Coris Bioconcept (verdelers International Medical)	Legionella V-test	4	4
IVD Research Inc. (verdelers Herman Diagnostics)	Legionella Urinary Antigen Lateral Flow	3	3
Meridian	SAS Legionella Test	7	7
Oxoid	Xpect Legionella Test	2	2
Totaal		80	80

6.3.4. Resultaten

6.3.4.1. Staal Ag/6792

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat (het laboratorium dat 2 verschillende kits gebruikte, bekwam met beide een negatief resultaat).

6.3.4.2. Staal Ag/11069

78 laboratoria bekwamen een positief resultaat (het laboratorium dat 2 verschillende kits gebruikte, bekwam met beide een positief resultaat). Één laboratorium bekwam een negatief resultaat.

6.3.5. Commentaar

Wij verwijzen naar het commentaar betreffende de EKE 2010/2 opgenomen in het desbetreffende globaal rapport (p.77-79).