

**EXPERTISE, DIENSTVERLENING EN KLANTENRELATIES
KWALITEIT VAN MEDISCHE LABORATORIA**

**COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE
COMITE VAN EXPERTEN**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE VOOR
ANALYSEN KLINISCHE BIOLOGIE**

**DEFINITIEF GLOBAAL RAPPORT
MICRO/SERO/PARA
ENQUETE 2015/1**

Microbiologie

Shigella sonnei
Klebsiella pneumoniae
Enterobacter cloacae
Enterococcus faecalis en Enterococcus faecium

Parasitologie

Plasmodium ovale
Plasmodium falciparum

Serologie

Hepatitis B serologie
Hepatitis C serologie
Legionella-Ag

WIV-2015/01/Micro/Sero/Para/100

Expertise, dienstverlening en klantenrelaties
Kwaliteit van medische laboratoria
J. Wytsmanstraat, 14
1050 Brussel | België

www.wiv-isp.be

COMITE VAN EXPERTEN

WIV (secretariaat)	TEL: 02/642.55.22	FAX: 02/642.56.45
Enquêtecoördinator: Dr. VERNELEN K.	TEL: 02/642.55.29 e-mail: kris.vernelen@wiv-isp.be	
Vervanger enquêtecoördinator: Dr. CHINA B.	TEL: 02/642.53.85 e-mail: bernard.china@wiv-isp.be	

Experten:

Apr. BOEL An	TEL: 053/72.47.85 e-mail: an.boel@olvz-aalst.be	FAX: 053/72.45.88
Dr. CLAEYS Geert	TEL: 09/332.36.45 e-mail: geert.claeys@ugent.be	FAX: 09/332.49.85
Dr. DE BEENHOUWER Hans	TEL: 053/72.42.72 e-mail: hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be	FAX: 053/72.45.88
Dr. DE GHELDRE Yves	TEL: 02/340.41.34 e-mail: yves.degheldre@chirec.be	FAX: 02/340.41.79
Dr. DEDISTE Anne	TEL: 02/535.45.42 e-mail: anne_dediste@stpierre-bru.be	FAX: /
Dr. DELFORGE Marie-Luce	TEL: 02/555.34.53 e-mail: marie-luce.delforge@erasme.ulb.ac.be	FAX: 02/555.64.59
Dr. LAGROU Katrien	TEL: 016/34.70.98 e-mail: katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be	FAX: 016/34.79.31
Dr. MAGERMAN Koen	TEL: 011/30.97.40 e-mail: koen.magerman@jessazh.be	FAX: 011/30.97.50
Dr. NAESSENS Anne	TEL: 02/477.50.02 e-mail: anne.naessens@uzbrussel.be	FAX: 02/477.50.15
Dr. PADALKO Elizaveta	TEL: 09/332.21.08 e-mail: elizaveta.padalko@uzgent.be	FAX: 09/332.49.85
Dr. REYNDERS Marijke	TEL: 050/45.39.27 e-mail: marijke.reynders@azsintjan.be	FAX: 050/45.26.19
Dr. VAN ESBROECK Marjan	TEL: 03/247.64.37 e-mail: mvesbroeck@itg.be	FAX: 03/247.64.40
Dr. VERROKEN Alexia	TEL: 02/764.67.32 e-mail: alexia.verroken@uclouvain.be	FAX: 02/764.69.33
Dr. WOESTYN Sophie	TEL: 056/85.58.85 e-mail: sophie.woestyn@skynet.be	FAX: 056/85.58.86

Expertenvergadering:

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/_nl/rapports_annee.htm

Toestemming verspreiding rapport: door Kris Vernelen (Enquêtecoördinator) op 31/08/2015



Inhoudstafel

Inhoudstafel	3
I. Algemene bemerkingen.....	4
II. Identificaties	5
2.1 Cultuur M/7117 Shigella sonnei	5
2.2 Cultuur M/12958 Klebsiella pneumoniae en Cultuur M/12961 Enterobacter cloacae complex	8
2.3 Cultuur M/13079 Enterococcus faecalis en Enterococcus faecium	14
Wij verwijzen naar de voorgaande commentaren over enterokokken (EKE 2003/1 voor E. faecium en EKE 2002/1 en 2014/3 voor E. faecalis).....	14
III. Resultaten van de identificaties	15
3.1 Cultuur M/7117 Shigella sonnei (stoelgang).....	15
3.2 Cultuur M/12958 Klebsiella pneumoniae (rectale wisser).....	17
3.3 Cultuur M/12961 Enterobacter cloacae complex (urine).....	18
3.4 Cultuur M/13079 Enterococcus faecium (even laboratoria) of Enterococcus faecalis (oneven laboratoria) (hemocultuur)	19
IV. Antibioqram.....	20
4.1 Cultuur M/12958 Klebsiella pneumoniae.....	20
4.2 Cultuur M/12961 Enterobacter cloacae	32
V. Parasitologie	41
5.1 De monsters	41
5.2 Staal P/12582	42
5.3 Staal P/12688	46
5.4 Commentaar	49
VI. Serologie.....	52
6.1 Hepatitis B	52
6.2 Hepatitis C	62
6.3 Interpretaties voor stalen S/4033 en S/5635	65
6.4 Commentaar	71
6.5 Legionella antigen.....	72

I. Algemene bemerkingen

Voor de 1^e evaluatie van het jaar 2015 (enquête 2015/1) werd volgend materiaal verzonden op 12 januari 2015.

1.1. 3 gelyofiliseerde monsters en 1 klinisch staal voor identificatie.

Voor 2 monsters werden de resultaten van de gevoeligheidstesten gevraagd.

1.2. Twee bloeditstrijkjes voor parasitologisch onderzoek.

1.3. Twee plasmamonsters voor de serologie van **hepatitis B en C** en 2 **urinestalen** voor de bepaling van het **Legionella-Ag**.

AANTAL DEELNEMERS

Het aantal evalueerbare antwoordbulletins bedroeg:

1.	Voor identificatie en antibiogram:	153
2.	Voor parasitologie:	162
3.	Voor de serologie:	
	HBV :	154
	HCV :	150
	Legionella Ag:	90

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:

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/nl/microbiologie.htm

en vervolgens klikt u onder "Codes" op "Overzicht verstuurde kiemen"

Parasitologie:

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/nl/parasitologie.htm

en vervolgens klikt u onder "Codes" op "Overzicht verstuurde parasieten"

Infectieuze serologie:

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/nl/inf_serologie.htm

en vervolgens klikt u op "Lijst van de geëvalueerde parameters"

II. Identificaties

2.1 Cultuur M/7117 *Shigella sonnei*

We hebben 153 antwoorden ontvangen; hiervan hebben 111 laboratoria (72.5%) de stam correct geïdentificeerd als *Shigella sonnei* en 13 laboratoria (8.5%) als *Shigella* sp. Dit laatste antwoord wordt ook als correct beschouwd.

Het staal bevatte een mengsel van *Proteus* en *Shigella*.

Shigella sonnei is het frequentst geïsoleerde species in België (67.8% van alle stammen in 2013). Cfr. het jaarlijks verslag van het NRC ⁽¹⁾.

Slechts 81% van de laboratoria hebben de pathogene kiem teruggevonden; we willen hier dan ook enkele elementen met betrekking tot de identificatie van *Shigella* herhalen.

Kweektechnieken:

- In de stoelgang: het gebruik van een selectieve bodem is noodzakelijk (bij voorbeeld Hektoen, SS, SSI, XLD, ...)
- In andere afnames: in de zeldzame gevallen van klinisch vermoeden van een invasieve shigellosis moet bijzondere aandacht besteed worden aan enterobacteriaceae die op *E. coli* lijken en als dusdanig geïdentificeerd werden, zeker als de gelijktijdig afgenomen coprocultuur positief is voor *Shigella*.
Shigella groeit zeer goed op alle soorten bodems; in geval het risico bestaat van een polymicrobiële afname, is het gebruik van een selectieve bodem aangewezen, met name om te voorkomen dat het onmogelijk zou zijn de bodem af te lezen wegens de overgroei door een *Proteus*.

Indien het een belangrijk staal is, zal een antibiogram uitgevoerd worden en zal de patiënt correct behandeld worden.

Identificatietechnieken:

- Klassiek, biochemisch: agarbuisjes, API20E galerij, BBL Crystal galerij, ... → OK, met bevestiging via agglutinatie
- Geautomatiseerd: Vitek2, Phoenix, ... → OK, met bevestiging via agglutinatie
- MALDI-TOF massaspectrometrie → bijkomende testen zijn onontbeerlijk want deze methode laat niet toe het onderscheid te maken tussen *E. coli* en *Shigella*.

Bevestiging:

- Agglutinatie van de kolonies met specifieke antisera. Deze analyse kan uitgevoerd worden door het referentiecentrum.

Als gevolg van het toenemende gebruik van massaspectrometrie als eerste identificatietechniek, bestaat het risico op fouten indien er geen bijzondere aandacht besteed wordt aan de identificaties "*E. coli/ Shigella*" meer bepaald in coproculturen. Ter informatie: in 2014 waren 18.2% van de stalen die het Franse Nationale Referentiecentrum ontving geen *Shigella*.

Aanbevolen bijkomende testen voor de identificatie in geval van gebruik van massaspectrometrie als routine-identificatietechniek:

Inleiding⁽²⁾: -Bijna 100% van de *Shigella* zijn lactose negatief (met uitzondering van *S. sonnei* waarvan 2% lactose +zijn)

-100% van de *Shigella* zijn Lysine decarboxylase (LDC) negatief.

Voor elke lactose negatieve stam **met** als identificatie *Shigella* vs *E. coli*

- LDC Test (Rosco®)
 - o Maak een suspensie van 4 Mc Farland in 0.25mL NaCl 0.9%
 - o Sluit het buisje af met paraffineolie
 - o Incubeer 3 à 4u (Max 24u) op 35-37°C
 - o Aflezen:
 - Negatieve test → klassieke identificatie of via automaat; als het antwoord = *Shigella*: bevestigen via agglutinatie
 - Positieve test → stop, dit is geen *Shigella*

Een klassieke identificatie en/of een agglutinatie kunnen uiteraard uitgevoerd worden op elke verdachte stam, maar dit lijkt me heel duur gezien het beperkte aantal positieve gevallen.

Verzending van de stalen naar het Nationaal Referentiecentrum (NRC):

Om een betrouwbare epidemiologie te bekomen, wordt aan de laboratoria gevraagd om elke *Shigella* stam naar het NRC op te sturen.

Het NRC voert volgende testen uit: speciesidentificatie, bepaling van serogroep en serotype en, in geval van een epidemie, moleculaire subtypering om de stammen onderling te vergelijken.

Bijkomende informatie en de jaarrapporten van het NRC zijn beschikbaar op hun website⁽¹⁾.

Anne Dediste, Laboratoria de la Porte de Hal

Referenties

1. https://nrchm.wiv-isp.be/fr/centres_ref_lab/salmonella_et_shigella_spp/default.aspx
2. J. Versalovic et al ; Manual of Clinical Microbiology, 10th ed. 2011.ASM Press.

2.2 Cultuur M/12958 *Klebsiella pneumoniae* en Cultuur M/12961 *Enterobacter cloacae* complex

Cultuur **M/12958** was een *Klebsiella pneumoniae* die resistentie vertoonde tegen verschillende antibioticaklassen (beta-lactams, aminoglycosiden, chinolonen,...) waaronder de carbapenems. De stam vertoonde meer bepaald in vitro verminderde gevoeligheid of resistentie tegen de geteste carbapenems (MIC=1-2 µg/ml voor meropenem (grensgevoeligheid volgens EUCAST) en MIC=4 µg/ml voor ertapenem (resistent volgens EUCAST)). Ze vertoonde overigens een verminderde diameter met de diskdiffusiemethode zowel voor ertapenem (inhibitiezone = 16 mm) als voor meropenem (inhibitiezone =23 mm). EUCAST heeft drempelwaarden voor screening bepaald die de confirmatie van de aanwezigheid van een carbapenemase wettigen voor alle stammen die een diameter <25 mm vertonen voor één van deze antibiotica (ertapenem, meropenem).

Deze stam produceerde een carbapenemase van het type OXA-48 evenals een ESBL van het type CTX-M-15 (CTX-M-Groep 1). Bovendien waren drie andere beta-lactamasen (SHV-1, TEM-1 en OXA-1/-30) en een enzym dat door acetylatie de aminoglycosiden en fluoroquinolonen (AAC(6')-Ib-cr) inactiveert, eveneens aanwezig.

Deze resistenties worden gemedieerd door 2 overdraagbare plasmiden (een plasmide van 62 Kb dat drager is van het gen dat codeert voor OXA-48, de andere resistentiegenen (CTX-M-15, OXA-1/-30, AAC(6')-Ib-cr) waren gecolocaliseerd onder vorm van resistentiecassettes op een genetisch element van het integron type, dat zich bevindt op een plasmide met een moleculair gewicht van 180 Kb).

OXA-48 is het meest voorkomende carbapenemase in België (meer dan 2/3 van alle CPE) en *Klebsiella pneumoniae* vormt het voornaamste species van de carbapenemase producerende enterobacteriën (70% van alle CPE).

De identificatie van stam **M/12958** stelde geen problemen (95% correcte antwoorden tot op speciesniveau). Hoewel deze stam een verminderde gevoeligheid vertoonde (grensgevoeligheid volgens de EUCAST- en CLSI-criteria), vermoedde of herkende de meerderheid van de laboratoria (>85%) de aanwezigheid van een carbapenemase (ongeveer 1/3 van de laboratoria vermeldden zelfs specifiek de aanwezigheid van een carbapenemase van het type OXA-48) en gaf aan dat in routine een dergelijke stam naar het referentielaboratorium verstuurd zou worden voor bevestiging van een carbapenemase. Dit is een significante verbetering t.o.v. de EKE in 2012 waar slechts 50% van de laboratoria de aanwezigheid vermoedden van een OXA-48 carbapenemase die een gelijkaardige lage resistentie tegen carbapenems vertoonde (stam **M/11721**; EKE 2012/3). De verbetering van het detectievermogen van carbapenemase door de Belgische laboratoria wordt eveneens vastgesteld in het stijgend aantal stammen die naar het NRC gestuurd worden en bevestigd worden als CPE. Terwijl in 2012 slechts 40% van de stammen bevestigd werden als CPE bereikte dit aantal 60% in 2014. De associatie van OXA-48 met een ESBL werd daarentegen slechts vermeld door 40 laboratoria, en illustreert de moeilijkheid van de fenotypische detectie van de aanwezigheid van dit type resistentie in aanwezigheid van een carbapenemase. De detectie van een ESBL

lijkt echter van secundair belang in aanwezigheid van een ESBL zowel vanuit klinisch standpunt wat betreft ziekenhuishygiëne.

De bepaling van de gevoeligheid voor fluorochinolonen vormde een ander probleem bij deze stam. Zoals hoger vermeld produceerde stam **M/12958** een enzym van het type AAC(6')-Ib-cr dat tegelijkertijd aminoglycosiden en fluorochinolonen acetyleert. Dit plasmidaal resistentiemechanisme leidt tot een resistentie tegen fluorochinolonen die duidelijk lager is dan degene die vastgesteld wordt in geval van een chromosomale resistentie die te wijten is aan mutatie van de genen die voor de DNA gyrasen (en meer bepaald *gyrA*) coderen en die typisch meer ciprofloxacin dan levofloxacin treft. De stam vertoonde een MIC die dubbel zo hoog lag voor ciprofloxacin (MIC=1 µg/ml) dan voor levofloxacin (0.5 µg/ml).

Dit zou het hoger aantal “vals gevoelige” resultaten kunnen verklaren dat bekomen werd door de laboratoria die de gevoeligheid voor levofloxacin bepaalden in vergelijking met de laboratoria die ciprofloxacin getest hebben. Een andere vaststelling is het hoger aantal gevoelig resultaten voor de chinolonen (opnieuw meer uitgesproken voor levofloxacin dan voor ciprofloxacin) bekomen met apparaten en dan meer bepaald de VITEK 2. Hoewel de exacte redenen voor deze inter-methode discordanties niet gekend zijn, is het mogelijk dat de verschillen in de resultaten een weergave zijn van de variaties in de geteste concentraties (meer bepaald lage concentraties die te hoog zijn om een low level resistentie tegen fluorochinolonen te kunnen detecteren).

We herinneren er hier aan dat de OXA-48 carbapenemases van klasse D (volgens de classificatie van Ambler) zijn die gecodeerd worden door genen die op een transposon (Tn1999 of Tn 1999.2) gelegen zijn, dat zich bevindt op een conjugatief autotransfereerbaar plasmide (pOXA48). De regio waar het gen dat codeert voor OXA-48 zich bevindt is zeer stabiel en het plasmide pOXA-48 waarop het gelegen is vertoont een hoge transferfrequentie die verklaart waarom dit carbapenemase zich zo sterk verspreidt zowel bij *Klebsiella pneumoniae* (intra-species verspreiding) als bij andere enterobacteriën (*E. coli*, *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., ...). De epidemische verspreiding van OXA-48 in verschillende Europese landen (waaronder met name België en Frankrijk) is dus eerder de weergave van een epidemie van plasmiden dan van stammen (clonen).

Er worden momenteel verschillende allelische varianten van OXA-48 onderkend, die verschillen door puntmutatie(s) van één of enkele aminozuren en aldus het hydrolyse spectrum van het enzym wijzigen. Zo beschikken OXA-181 en OXA-232, die een grote prevalentie vertonen op het Indische subcontinent, een toegenomen hydrolytische activiteit tegen de carbapenems in vergelijking met OXA-48. Omgekeerd vertonen de mutaties bij OXA-163 op de actieve site van het enzym een verlies van hydrolyse van de carbapenems en een profiel van het type ESBL (hydrolyse van de cefalosporines van 3^e en 4^e generatie, inhibitie door clavulaanzuur en tazobactam).

De OXA-48 carbapenemases en het merendeel van hun varianten geven een zwakke hydrolyse van de carbapenems, maar hydrolyseren daarentegen noch de breedspectrum cefalosporines (3^e en 4^e generatie) noch aztreonam. In tegenstelling

tot de carbapenemases van klasse A (KPC) en klasse B (metallo-beta-lactamases) waarvoor er gekende inhibitoren bestaan (aminophenyl boronisch zuur, inhibitor van klasse A en EDTA dipicolinezuur (DPA), inhibitor van klasse B), is er tot op heden geen inhibitor van de carbapenemases van klasse D (OXA-48) gekend. Een typisch fenotypisch kenmerk van OXA-48 carbapenemase is echter de high-level resistentie tegen penicillinen die geassocieerd zijn aan een beta-lactamase inhibitor (clavulaanzuur, tazobactam) en tegen temocilline (MIC > 128 µg/ml; inhibitiezone < 12 mm). Hoewel ze niet specifiek is, vormt de resistentie tegen deze antibiotica een interessant element voor de detectie van het OXA-48 carbapenemase in het laboratorium.

De resistentie tegen ceftazidime en cefepime die vastgesteld werd bij stam **M/12958** wordt verklaard door de associatie met een ESBL van het type CTX-M (CTX-M-15) die aanwezig is bij 80% van de stammen die producer zijn van het OXA-48 carbapenemase.

Deze stam vertoonde voor meropenem een inhibitiezone van 24 mm en een MIC van 1 µg/ml en was dus nog gevoelig volgens de regels van EUCAST en van CLSI. EUCAST heeft echter een grenswaarde (inhibitiezone < 25 mm) gedefinieerd als screeningsdrempel voor het opsporen en bevestigen van een carbapenemase. Het is echter belangrijk op te merken dat ongeveer 30% van de stammen die bevestigd werden als OXA-48 producer in het referentielaboratorium een inhibitiezone voor meropenem hebben die groter is dan deze drempelwaarde. In afwachting van de bevestiging door de EUCAST (de herziening van de richtlijnen is gaande), lijkt het echter belangrijk dat landen/regio's met een hoge prevalentie voor OXA-48 (zoals België) een diameter voor meropenem van <27 mm overwegen als drempel voor screening.

Het gebruik van ertapenem (screeningsdrempel <25 mm aanbevolen door EUCAST) verbetert de detectiegevoeligheid voor OXA-48 carbapenemases (gevoeligheid: 97%) maar met een duidelijk lagere specificiteit (60%) meer bepaald bij *Enterobacter* spp. (stammen die het cefalosporinase AmpC en of ESBL produceren met resistentie/vermindering van de gevoeligheid door impermeabiliteit van de wand).

Er zijn momenteel vele sneltesten (diagnose in 60 à 120 min) commercieel beschikbaar voor de screening op carbapenemases. Het merendeel hiervan zijn gebaseerd op de colorimetrische detectie van de hydrolyse van imipenem (Rapidec[®], bioMérieux; Rosco CARBA SCREEN kit, Rosco; Blue Carb test, Rosco). Deze sneltesten hebben een uitstekende specificiteit in geval van negativiteit (99-100%) en kunnen gebruikt worden om een carbapenemase uit te sluiten als het resultaat negatief is gezien de hoge negatief predictieve waarde. Van de verschillende testen, vertoont de Rapidec[®] (bioMérieux) de hoogste gevoeligheid (>90%) maar vals negatieve resultaten worden soms vastgesteld voor OXA-48 producers (5-10% van de gevallen). De gewijzigde Hodge test (MHT; Modified Hodge Test) vertoont een goede gevoeligheid voor de detectie van sommige carbapenemases (meer bepaald KPC en OXA-48) maar mist daarentegen gevoeligheid voor de detectie van metallo-beta-lactamases (klasse B), meer bepaald de NDM. Er worden soms vals positieve resultaten vastgesteld (producers van AmpC en/of ESBL met impermeabiliteit van de wand). Gezien de moeilijkheid om de test te standaardiseren en de soms subjectieve

interpretatie van het resultaat is het niet aanbevolen om de MHT in routine te gebruiken voor de diagnose van carbapenemasen.

Carbapenemasen kunnen eveneens in 2-3 uur gedetecteerd worden met de massaspectrometrie op de MALDI-TOF (hydrolyse van imipenem vastgesteld door het verdwijnen van de pieken van het actieve product en de aanwezigheid van pieken die overeenkomen met de afbraakproducten van imipenem), maar de uitvoering hiervan blijft nog altijd arbeidsintensief en de test is momenteel niet aanbevolen als eerste lijn in de routine.

Genotypische technieken gebaseerd op PCR zijn eveneens beschreven. Deze technieken vereisen een infrastructuur die geschikt is voor moleculaire biologie en ze blijven bovendien te duur om in routine te kunnen gebruikt worden. Er zijn eveneens commerciële geautomatiseerde sneltesten beschikbaar die via real time multiplex PCR of via isothermische amplificatietechnieken (Loop-mediated isothermal amplification [LAMP]) toelaten om binnen het uur resultaten (exacte detectie van het type CPE) te bekomen. Globaal gezien hebben de genotypische methoden het nadeel dat ze geen detectie toelaten van nieuwe types van carbapenemasen of van varianten en hun gebruik blijft nog beperkt tot gespecialiseerde laboratoria en referentiecentra.

We moeten opmerken dat enerzijds sommige carbapenemasen (meerdere varianten van OXA-48, allelische varianten van IMP,....) niet gedetecteerd worden door de commerciële testen en dat anderzijds deze testen sommige varianten (bvb: OXA-163) detecteren die geen carbapenemase activiteit vertonen (bvb: OXA-163).

De detectie van carbapenemasen door een immunochromatografische test die gebruikt maakt van monoclonale antistoffen tegen een gezuiverd recombinant proteïne is een grote vooruitgang. Weldra zal een eerste test gecommercialiseerd worden voor de snelle detectie in minder dan 15 min van het OXA-48 carbapenemase vertrekkende van kolonies die op een kweekbodem bekomen worden (OXA-48 K-SeT, Coris BioConcept). De voorlopige resultaten bekomen met de eerste evaluaties lijken veelbelovend (gevoeligheid en specificiteit: 100%). Bovendien worden momenteel de immunochromatografische testen voor de detectie van andere types van carbapenemasen (bvb. : KPC, NDM) ontwikkeld. Naast zijn uitstekende gevoeligheid en specificiteit, heeft deze eenvoudige, snelle en goedkope techniek het voordeel van de multiplex mogelijkheden (de mogelijkheid om antigenen gericht tegen verschillende types van carbapenemasen te detecteren met eenzelfde test); hij wordt reeds veelvuldig gebruikt in de klinische laboratoria voor de diagnose van pathogenen die verantwoordelijk zijn voor verschillende infectieuze aandoeningen.

Staal **M/12961** behoorde tot het complex *Enterobacter cloacae*, een heterogene taxonomische groep (die 6 species groepeerd waaronder *E. cloacae* stricto sensu, *E. asburiae*, *E. hormaechei*, *E. kobei*, *E. ludwigii* en *E. nimipressuralis*). De verstuurde stam behoorde tot het species *E. cloacae*. Het feit dat de meerderheid van de laboratoria (99%) een correct antwoord gegeven heeft weerspiegelt waarschijnlijk het toenemend gebruik van de MALDI-TOF MS voor bacteriële identificatie in routine. In tegenstelling tot de conventionele biochemische identificatietechnieken identificeert

deze methode inderdaad gemakkelijk de verschillende taxonen binnen het complex *Enterobacter cloacae*.

Deze stam vertoonde een klassiek multi-resistentie profiel met effect op alle β -lactams (penicillines, cefalosporines en carbapenems) en aminoglycosiden (met uitzondering van amikacine dat een limietgevoeligheid vertoonde; diameter 16 mm; MIC = 8 μ g/ml met de microdilutie methode). Deze stam bewaarde een goede gevoeligheid voor de fluoroquinolones (ciprofloxacine en levofloxacine), iets wat ongewoon is voor een CPE. In tegenstelling tot de voorgaande stam (M/12958), vertoonde stam **M/12961** een high level resistentie tegen meropenem (MIC = 16 μ g/ml), resistent zowel volgens de richtlijnen van de EUCAST als van de CLSI. Deze stam produceerde een metallo- β -lactamase (carbapenemase van klasse B van Ambler) van het type VIM-1 (Verona Imipenemase) en een ESBL van het type CTX-M-9.

De overgrote meerderheid van de deelnemers (>85% van de laboratoria) hebben het multi-resistent karakter van de stam benadrukt en hebben de aanwezigheid van een carbapenemase herkend of vermoed en hebben gesuggereerd dat de stam naar een referentiecentrum verstuurd zou moeten worden voor de bevestiging van een carbapenemase.

De screening voor een MBL kan gemakkelijk worden uitgevoerd met behulp van fenotypische testen die de synergie opsporen tussen imipenem of meropenem en EDTA of andere inhibitoren van de carbapenemasen van het MBL type zoals DPA (dipicolinezuur). Er bestaan momenteel verschillende testen of commerciële kits onder verschillende vormen: dubbele teststrips die gebruik maken van de concentratiegradiënt van antibiotica (imipenem vs imipenem/EDTA of meropenem vs meropenem/DPA) (de test is positief als de ratio van de MIC carbapenems vs carbapenem/MBL-inhibitor ≥ 8 is), en gecombineerde schijfjes (imipenem vs imipenem/EDTA of meropenem vs meropenem/DPA), gecommercialiseerd door de firma ROSCO® (de test is positief als het verschil tussen de diameter die bekomen wordt met de combinatie carbapenem/MBL-inhibitor ≥ 5 mm met deze die bekomen wordt voor her carbapenem alleen). De aanwezigheid van een geassocieerde ESBL is gewoonlijk moeilijk vast te stellen, maar ze kon in dit geval vermoed worden wegens de resistentie tegen aztreonam (vermits dit antibioticum niet gehydrolyseerd wordt door de MBL). Bij stammen die carbapenemasen produceren, kan de aanwezigheid van een geassocieerde ESBL fenotypisch aangetoond worden door het gebruik van de synergie testen (cefotaxime en ceftazidime +/- clavulaanzuur) en aanwezigheid van specifieke inhibitoren van de carbapenemasen (bvb: EDTA voor de metallo- β -lactamasen, boronisch zuur voor de carbapenemasen van klasse A).

Het klinisch en epidemiologisch belang van het opsporen van carbapenemasen werd reeds uitgebreid beschreven in het commentaar van de EKE 2012/3. U kan deze tekst terugvinden in het jaarrapport 2012. Wij bevelen u van harte aan deze tekst te raadplegen (https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/_nl/rapports_2012.htm).

De tabellen die de classificatie van de verworven carbapenemasen, de concentraties en kritisch diameters van de carbapenemasen volgens de aanbevelingen van de

EUCAST en de fenotypische detectiemethoden weergeven, zijn in ditzelfde jaarrapport opgenomen als tabellen 1.2.10, 11 en 12.

Op elke verdachte stam die het referentiecentrum ontvangt voert het eerst fenotypische testen uit (bevestiging van de bacteriële identificatie met MALDI-TOF MS, uitgebreid antibiogram (16 antibiotica) met agar diskdiffusie, hydrolyse testen van de carbapenems door de carba NP test). In functie van de resultaten hiervan, worden elke dag complementaire testen uitgevoerd (gen amplificatie via een isotherme methode type LAMP). Positieve resultaten voor CPE worden langs elektronische weg meegedeeld, en de definitieve protocollen worden dagelijks (elektronisch en op papier) gepubliceerd. De maximum turn around time van het NRC voor ESBL/Carbapenemase bedroeg in 2014 6 werkdagen en overschreed in meer dan 90% van de gevallen de 3 werkdagen niet.

Om het antwoord te versnellen vraagt het NRC met aandrang aan de externe laboratoria gevraagd om verse culturen op agarmilieu op te sturen liever dan in diepe bodems (aangezien in deze gevallen de stam eerst op agar overgeënt moet worden, wat het uitvoeren van de testen met 24 uur vertraagt).

Pr. Y. Glupczynski
Laboratoire de bactériologie
CHU Dinant-Godinne UCL
Responsable du CNR des Bactéries
Gram-négatif résistantes aux antibiotiques

2.3 Cultuur M/13079 *Enterococcus faecalis* en *Enterococcus faecium*

Wij verwijzen naar de voorgaande commentaren over enterokokken (EKE 2003/1 voor *E. faecium* en EKE 2002/1 en 2014/3 voor *E. faecalis*).

III. Resultaten van de identificaties

156 laboratoria hebben een antwoord ingestuurd. Naast 153 Belgische en Luxemburgse waren dit 2 buitenlandse en één firmalaboratorium. Deze laatste 3 werden niet in de verwerking der resultaten opgenomen.

Het aantal toolkit gebruikers bedroeg 82.4%. 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, encodagefouten,...

Hoewel in de Toolkit de mogelijk voorzien is om "uitbested" te antwoorden, zouden wij willen vragen dit in hoofdzaak te gebruiken indien u "vastloopt" in de identificaties.

Indien u in routine een bepaalde staloorsprong niet verwerkt (bvb. hemoculturen) **raden wij u toch aan om dergelijke stalen te enten en identificeren** (en het eventuele antibiogram uit te voeren): **in vele gevallen betreft het hier immers kiemen die ook in andere afnames kunnen voorkomen.**

Wij wensen ook te herhalen dat indien u, om welke reden dan ook, problemen ondervindt met een bepaald staal, het steeds mogelijk is om een 2^e staal te vragen gedurende de enquête (of na afloop ter controle van uw resultaten).

De correcte of aanvaardbare resultaten zijn onderlijnd.

3.1 Cultuur M/7117 *Shigella sonnei* (stoelgang)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Een 55-jarige dame neemt op zondag deel aan een barbecue. Op maandagavond wordt zij ziek met rillingen, braken en diarree. Twee dagen later wordt zij opgenomen in het ziekenhuis en wordt een stoelgangsstaal afgenomen. Ondertussen vertonen ook haar echtgenoot en kleinkind dezelfde klachten.

Wij vragen u om het staal te behandelen zoals in routine: de identificatie antwoorden tot op het niveau dat u in routine antwoordt."

<u><i>Shigella sonnei</i></u>	111	72.5%
<u><i>Shigella species</i></u>	13	8.5%
<i>Escheria coli</i>	2	
<i>Escheria coli</i> : STEC	1	
Aanwezigheid van commensalen (Vermoeden van <i>Shigella</i> – verdachte kolonies op Hektoën en DCLS maar onmogelijk te isoleren van de overgroeïende <i>Proteus</i> sp.)	1	
Afwezigheid van pathogenen	23	
Uitbested	2	

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

Antwoord	N labo's
Epidemiologische redenen	59
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram	11
Epidemiologische redenen + Confirmatie van identificatie en/of antibiogram ¹	44
Epidemiologische redenen + andere niet gepreciseerde reden	1
Opsporen van enteropathogene <i>E. coli</i>	1
Wordt niet doorgestuurd	32
Geen antwoord op de vraag	5
Totaal	153

¹ Twee laboratoria geven aan dat het enkel de confirmatie van de identificatie betreft.

3.2 Cultuur M/12958 *Klebsiella pneumoniae* (rectale wisser)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Vrouw van 90 jaar: rectaal uitstrijkje voor screening (screening bij opname; hospitalisatie op de afdeling geriatrie). Transfer van een RVT (voorgeschiedenis hospitalisatie gedurende 3 maanden voor de huidige opname).

Wij vragen u om het staal te behandelen zoals in routine: de identificatie antwoorden tot op het niveau dat u in routine antwoordt en enkel een antibiogram uitvoeren indien u dit ook in routine zou uitvoeren."

<u><i>Klebsiella pneumoniae</i></u>	98	64.1%
<u><i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i></u>	45	29.4%
<u><i>Klebsiella pneumoniae complex</i></u>	1	0.7%
<u><i>Klebsiella pneumoniae ssp ozaenae</i></u>	1	
<i>Klebsiella terrigena</i>	1	
<i>Raoultella terrigena</i>	3	
<u><i>Klebsiella pneumoniae/ Raoultella terrigena</i></u>	1	
Afwezigheid van pathogenen	1	
Uitbesteed	2	

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

Antwoord	N labo's
Epidemiologische redenen	14
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram ¹	39
Epidemiologische redenen + Confirmatie van identificatie en/of antibiogram ²	72
Epidemiologische redenen + Confirmatie van identificatie en/of antibiogram + andere niet gepreciseerde reden	2
Epidemiologische redenen + andere niet gepreciseerde reden	1
Andere niet gepreciseerde reden	1
Wordt niet doorgestuurd	21
Geen antwoord op de vraag	3
Totaal	153

¹ Dertien laboratoria geven aan dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft: 12 hiervan vermelden expliciet dat het controle van CPE/carbapenemase betreft.

² Vijftien laboratoria geven aan dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft: 13 hiervan vermelden expliciet dat het controle van CPE/carbapenemase betreft.

3.3 Cultuur M/12961 *Enterobacter cloacae* complex (urine)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: “Man van 73 jaar: hospitalisatie op de afdeling geriatrie. Urinestaal (Urineweginfectie na sondering van de blaas wegens urinaire retentie tijdens het verblijf in het ziekenhuis).

Wij vragen u om het staal te behandelen zoals in routine: de identificatie antwoorden tot op het niveau dat u in routine antwoordt en enkel een antibiogram uitvoeren voor de kiemen die pathogeen zijn voor deze afnameplaats.”

<u><i>Enterobacter cloacae</i></u>	119	77.8%
<u><i>Enterobacter cloacae ssp. cloacae</i></u>	20	13.1%
<u><i>Enterobacter cloacae complex</i></u>	11	7.2%
<u><i>Enterobacter cloacae/asburiae</i></u>	2	1.3%
<i>Enterobacter asburiae</i>	1	

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

<i>Antwoord</i>	<i>N labo's</i>
Epidemiologische redenen	20
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram ¹	42
Epidemiologische redenen + Confirmatie van identificatie en/of antibiogram ²	64
Epidemiologische redenen + Confirmatie van identificatie en/of antibiogram + andere niet gepreciseerde reden	3
Andere niet gepreciseerde reden	1
Wordt niet doorgestuurd	22
Geen antwoord op de vraag	1
<i>Totaal</i>	<i>153</i>

¹ Zeventien laboratoria geven aan dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft en meer bepaald controle van CPE/carbapenemase.

² Twaalf laboratoria geven aan dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft: 11 hiervan vermelden expliciet dat het controle van CPE/carbapenemase betreft..

3.4 Cultuur M/13079 *Enterococcus faecium* (even laboratoria) of *Enterococcus faecalis* (oneven laboratoria) (hemocultuur)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Hemoculturen afgenomen bij een 75-jarige patiënt met endocarditis. Er zijn 6 flesjes positief.

Wij vragen u om het staal te behandelen zoals in routine: de identificatie antwoorden tot op het niveau dat u in routine antwoordt."

Onder ditzelfde staalnummer werd een verschillende staal verstuurd naar de laboratoria met even en oneven erkenningsnummer.

Laboratoria met even erkenningsnummer (N = 88)

<i>Enterococcus faecium</i>	86 97.7%
<i>Enterococcus faecalis</i>	2

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

Antwoord	N labo's
Epidemiologische redenen	10
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram ¹	9
Epidemiologische redenen + Confirmatie van identificatie en/of antibiogram ²	16
Epidemiologische redenen + Confirmatie van identificatie en/of antibiogram + andere niet gepreciseerde reden	2
Andere niet gepreciseerde reden	1
Wordt niet doorgestuurd	48
Geen antwoord op de vraag	2
Totaal	88

¹ Drie laboratoria geven aan dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft en meer bepaald controle de vancomycine-resistentie.

² Vier laboratoria geven aan dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft: 3 hiervan vermelden expliciet dat het controle de vancomycine-resistentie betreft.

Laboratoria met oneven erkenningsnummer (N = 65)

<i>Enterococcus faecalis</i>	62 95.4%
Uitbesteed	3

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

Antwoord	N labo's
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram	2
Epidemiologische redenen + Confirmatie van identificatie en/of antibiogram	2
Wordt niet doorgestuurd	59
Geen antwoord op de vraag	2
Totaal	65

IV. Antibioogram

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 antibioogram werd opgesteld op basis van de resultaten van de verschillende experts en het referentiecentrum.

Op staal M/12958 voerden zes laboratoria geen antibioogram uit:

- de 2 laboratoria die vermeldden dit type stalen uit te besteden
- het laboratorium dat "afwezigheid van pathogenen" antwoordde
- één laboratorium dat vermeldde geen antibioogram uit te voeren omdat het een screeningstaal betrof (dit labo vermeldde wel: "ESBL +, CPE klasse D +")
- twee laboratoria die de reden voor het niet uitvoeren van het antibioogram niet vermeldden; één van beide vermeldde wel "ESBL +, CPE klasse D +"; het andere vermeldde deze kiem door te sturen voor bepaling van carbapenemase.

Op staal M/12961 voerde één laboratorium geen antibioogram uit: het vermeldde deze kiem door te sturen voor bepaling van carbapenemase.

4.1 Cultuur M/12958 *Klebsiella pneumoniae*

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 (4.1.1) het meest resistente resultaat weer te geven.

Een groot aantal laboratoria voorzagen hun antwoord van (vaak uitgebreide) opmerkingen; om reden van vereenvoudiging en leesbaarheid hebben wij deze opmerkingen hieronder gegroepeerd in grote lijnen:

- Aanwezigheid van carbapenemase, (vermoedelijk) OXA-48: 40 labo's
 - o 15 hiervan: + ESBL
 - o 1 hiervan ESBL negatief
- Aanwezigheid van carbapenemase, vermoedelijk OXA-48 of NDM: 1 labo
- Aanwezigheid van carbapenemase, OXA-62: 1 labo
- Aanwezigheid van carbapenemase, vermoedelijk OXA-54: 2 labo's
 - o 1 hiervan: + ESBL
- Aanwezigheid van carbapenemase, vermoedelijk OXA-52 (+ ESBL): 1 labo
- Aanwezigheid van carbapenemase, vermoedelijk KPC: 1 labo
- Aanwezigheid van carbapenemase van klasse D: 1 labo
- (Vermoeden van) aanwezigheid van carbapenemase: 56 labo's
 - o 22 hiervan: + (vermoeden van) ESBL
- Aanwezigheid van ESBL: 7 labo's

Tabel 4.1.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibioticum</i>	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Piperacilline-tazobactam	R	141	-	4	136	1 ¹
Ceftazidime		143	10	60	72	1 ²
Cefepime		138	37	69	31	1 ³
Cefazoline ⁴		1	-	-	1	-
Cefoxitine ⁵		1	1	-	-	-
Ceftriaxone ⁵		1	-	-	1	-
Cefuroxime ^{4,6}		2	-	-	2	-
Meropenem		148	88	34	25	1 ⁷
Imipenem ⁸		3	1	1	1	-
Ertapenem ^{8,9}		8	-	2	6	-
Temocilline	R	127	-	-	127	-
Ciprofloxacin	I/R	139	32	39	68	-
Levofloxacin	I/R	78	52	2	24	-
Ofloxacin ¹⁰		1	-	-	1	-
Amikacine	S	129	127	1	1	-
Gentamicine ¹¹		2	-	-	2	-

¹ Eén laboratorium gaf wel een antwoord voor het expert resultaat ("I") maar liet het finale resultaat open.

² Eén laboratorium gaf wel een antwoord voor het expert resultaat ("R") maar liet het finale resultaat open.

³ Eén laboratorium gaf wel een antwoord voor het expert resultaat ("R") maar antwoordde "?" voor het finale resultaat.

⁴ Eén laboratorium bepaalde naast de gevoeligheid voor ceftazidime en cefepime ook deze voor cefazoline en cefuroxime.

⁵ Eén laboratorium bepaalde naast de gevoeligheid voor ceftazidime en cefepime ook deze voor cefoxitine.

⁶ Eén laboratorium bepaalde naast de gevoeligheid voor ceftazidime en cefepime ook deze voor ceftriaxone en cefuroxime.

⁷ Eén laboratorium gaf wel een antwoord voor het ruw resultaat ("S") maar antwoordde "vermoeden van carbapenemase" voor het finale resultaat.

⁸ Drie laboratoria bepaalden naast de gevoeligheid voor meropenem ook deze voor imipenem en ertapenem.

⁹ Vier laboratoria bepaalden naast de gevoeligheid voor meropenem ook deze voor ertapenem. Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor ertapenem in plaats van voor meropenem

¹⁰ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor ofloxacin in plaats van voor levofloxacin

¹¹ Eén laboratorium bepaalde naast de gevoeligheid voor amikacine ook deze voor gentamicine. Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor gentamicine in plaats van voor amikacine.

Het in de tabellen 4.1.2. tot en met 4.1.13. weergegeven resultaat is het finale resultaat, na eventuele wijziging via toepassing der expert-regels.

De resultaten van de laboratoria die de diameter van de papieren schijfjes manueel afgelezen hebben, vindt u in tabel 4.1.2. 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 Osiris, Adagio of Sirscan gebruikt hebben om de diameters van de papieren schijfjes af te lezen vindt u in tabellen 4.1.3., 4.1.4 en 4.1.5. De berekeningen van mediaan, minimum en maximum zijn echter niet uitgevoerd voor Osiris omwille van het beperkte aantal deelnemers voor deze methode.

Tabel 4.1.2. Bekomen diameters met de papieren schijfjes voor staal M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers) (Nombre Totaal)		
					S	I	R
Piperacilline-tazobactam ¹	(17)				-	-	17
	10	30 + 6	9	6 – 14	-	-	10
	7	100 + 10	13	6 – 16	-	-	7
Ceftazidime ¹	(18)				5	5	8
	8	10	19	15 – 21	-	4	4
	10	30	21	17 – 24	5	1	4
Cefepime	13 (13)	30	24	20 – 27	8	3	2
Cefoxitine	1 (1)	30	28	-	1	-	-
Meropenem	17 (17)	10	22	19 – 25	7	7	3
Imipenem	1 (1)	10	23	-	1	-	-
Ertapenem	2 (3)	10	16	13 – 19	-	-	3
Temocilline	18 (18)	30	6	6 – 9	-	-	18
Ciprofloxacin	16 (16)	5	17	14 – 20	1	4	11
Levofloxacin	5 (5)	5	22	15 – 23	3	1	1
Amikacine	16 (16)	30	21	16 – 25	16	-	-

¹ Voor deze beide antibiotica worden 2 verschillende ladingen vermeld.

Tabel 4.1.3. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers	Resultaat		
		S	I	R
Piperacilline-tazobactam	2	-	-	2
Ceftazidime	1	-	1	-
Cefepime	2	2	-	-
Meropenem	2	2	-	-
Temocilline	2	-	-	2
Ciprofloxacin	2	-	-	2
Amikacine	2	2	-	-

Tabel 4.1.4. Resultaten bekomen met de Adagio voor M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers) (Nombre Totaal)		
					S	I	R
Piperacilline-tazobactam ¹	(6)				-	-	6
	1	30 + 6	6	-	-	-	1
	5	100 + 10	12	11 – 15	-	-	5
Ceftazidime ¹	(6)				1	1	4
	2	10	17.5	17 – 18	-	-	2
	4	30	22	21 – 22	1	1	2
Cefepime	6 (6)	30	23	17 – 25	2	3	1
Cefazoline	1 (1)	30	6	-	-	-	1
Cefuroxime	1 (1)	30	6	-	-	-	1
Meropenem	6 (6)	10	23	20 – 23	2	3	1
Imipenem	1 (1)	10	21	-	-	1	-
Ertapenem	1 (1)	10	14	-	-	-	1
Temocilline	5 (5)	30	6	6 – 8	-	-	5
Ciprofloxacine ¹	(4)				-	-	4
	3	5	16	15 – 17	-	-	3
	1	30	16	-	-	-	1
Levofloxacine	2 (2)	5	19.5	19 – 20	1	1	-
Ofloxacine	1 (1)	5	18	-	-	-	1
Amikacine	6 (6)	30	20	18 – 21	6	-	-
Gentamicine	1 (1)	10	6	-	-	-	1

¹ Voor deze drie antibiotica worden 2 verschillende ladingen vermeld

Tabel 4.1.5. Resultaten bekomen met de Sirscan met de papieren schijfjes staal M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers) (Nombre Totaal)		
					S	I	R
Piperacilline-tazobactam ¹	(7)				-	-	7
	6	30 + 6	15	14 – 16	-	-	6
	1	100 + 10	16	-	-	-	1
Ceftazidime ¹	(8)				-	-	8
	7	10	16	6 – 18	-	-	7
	1	30	19	-	-	-	1
Cefepime	8 (8)	30	23	20 – 26	2	4	2
Meropenem	6 (6)	10	22	16 - 23	3	3	-
Temocilline	7 (7)	30	6	6 – 6	-	-	7
Ciprofloxacine	6 (6)	5	18	16 – 19	-	1	5
Levofloxacine	1 (2)	5	25	-	-	-	2
Amikacine	7 (7)	30	20	18 – 22	7	-	-

¹ Voor deze beide antibiotica worden 2 verschillende ladingen vermeld.

In tabellen 4.1.6. a en b vermeldden wij voor de Neosensitabs schijfjes de resultaten bekomen met manuele aflezing. Enkel voor de schijfjes met nieuwe ladingen (« new ») waren er echter voldoende deelnemers om op statistisch zinvolle manier mediaan, minimum en maximum te bepalen.

In tabel 4.1.7. worden de resultaten van de schijfjes met nieuwe ladingen die met de Sirscan afgelezen werden, weergegeven.

Geen enkel laboratorium las de Neosensitabs met de klassieke ladingen (“old”) af met de Sirscan.

Tabel 4.1.6a. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (klassieke Neosensitabs ladingen) voor staal M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers	Resultaat		
		S	I	R
Piperacilline-tazobactam	1	-	-	1
Meropenem	1	1	-	-
Temocilline	4	-	-	4
Levofloxacin	1	1	-	-
Amikacine	1	-	1	-

Tabel 4.1.6b. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers) (Nombre Totaal)			
					S	I	R	*
Piperacilline-tazobactam ¹	(12)				-	-	12	-
	5 ²	30 + 6	9	9 – 11	-	-	5	-
	6	100 + 10	15	9 – 16	-	-	6	-
Ceftazidime ¹	(12)				-	2	10	-
	5	10	15	14 – 17	-	-	5	-
	7	30	20	15 – 23	-	2	5	-
Cefepime	9 (9)	30	23	9 – 25	3	2	4	-
Meropenem	12 (12)	10	23	15 – 24	3	5	3	1 ³
Temocilline	11 (11)	30	10	9 – 12	-	-	11	-
Ciprofloxacin	10 (10)	5	17	16 – 18	-	4	6	-
Levofloxacin	3 (3)	5	24	22 – 26	3	-	-	-
Amikacine	9 (11)	30	20	18 – 22	10	-	1	-

¹ Voor deze beide antibiotica worden 2 verschillende ladingen vermeld.

² Tevens vermeldde één laboratorium een diameter <9 mm (“R”).

³ Eén laboratorium verwees naar het resultaat (“S”) van de MIC-bepaling die het uitvoerde.

Tabel 4.1.7. Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers	Resultaat		
		S	I	R
Piperacilline-tazobactam	2	-	-	2
Ceftazidime	2	-	-	2
Cefepime	1	-	1	-
Meropenem	2	1	1	-
Temocilline	2	-	-	2
Ciprofloxacine	1	-	-	1
Levofloxacine	1	1	-	-
Amikacine	2	2	-	-

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

Tabel 4.1.8. Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor staal M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Piperacilline-tazobactam	3	3 x R	2 x 96 mg/L; ≥256 mg/L
Ceftazidime	1	1 x I	4 mg/L
Cefepime	4	3 x I	2 x 1.5 mg/L; 2 mg/L
Meropenem	19	1 x R	4 mg/L
		15 x S	4 x 0.25 mg/L; 0.38 mg/L; 2 x 0.5 mg/L; 2 x 0.75 mg/L; 4 x 1 mg/L; 1.5 mg/L; 2 mg/L
Imipenem	2	1 x I	4 mg/L
		3 x R	8 mg/L; 2 x 32 mg/L
		1 x S	1 mg/L
Ertapenem	2	1 x R	3 mg/L
		1 x I	0.75 mg/L
Temocilline	12	1 x R	32 mg/L
		12 x R	2 x 128 mg/L; 192 mg/L; 256 mg/L; 8 x ≥ 1024 mg/L
Ciprofloxacine	4	1 x I	2 mg/L
		3 x R	1.5 mg/L; 3 mg/L; 4 mg/L
Levofloxacine	2	2 x S	2 x 0.5 mg/L
Amikacine	3	3 x S	1.5 mg/L; 2 x 3 mg/L

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

Tabel 4.1.9. Resultaten bekomen MIC-waarden met de MICE-test voor staal M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Meropenem	7	4 x S 1 x I 1 x R 1 x vermoeden van carbapenemase ¹	0.25 mg/L; 2 x 0.5 mg/L; 1 mg/L 2 mg/L 6 mg/L 2 mg/L
Ciprofloxacin	1	1 x R	2 mg/L

¹ Eén laboratorium gaf wel een antwoord voor het ruw resultaat ("S") maar antwoordde "vermoeden van carbapenemase" voor het finale resultaat.

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

Tabel 4.1.10. Resultaten bekomen MIC-waarden met de MIC test Strip voor staal M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Meropenem	12	8 x S 2 x I 2 x R	0.25 mg/L; 2 x 0.5 mg/L; 0.75 mg/L; 1 mg/L; 2 x 1.5 mg/L; 4 mg/L 2 x 2 mg/L 2x > 32 mg/L
Ertapenem	1	1 x R	>32 mg/L
Ciprofloxacin	1	1 x I	1.5 mg/L

De resultaten bekomen met de Vitek worden weergegeven in tabel 4.1.11.

Tabel 4.1.11. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibioticum	Vitek 2						Vitek 2 compact					
	Finaal resultaat				Meest vermelde MIC waarde (mg/L)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/L)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	
	S	I	R	*			S	I	R			
Piperacilline-tazobactam	-	1	49	1 ¹	≥128	42 (51)	-	1	33	≥128	26 (34)	
Ceftazidime	5	25	21	1 ²	4	49 (52)	1	14	18	4	30 (33)	
Cefepime	14	31	5	1 ³	≤1	47 (51)	3	20	9	≤1	31 (32)	
Meropenem	31	11	9	-	1	40 (51)	15	7	7	1	23 (29)	
Ertapenem	-	1	1	-	4 en ≥8	1 en 1 (2)	-	-	-	-	-	
Temocilline	-	-	40	-	≥32	39 (40)	-	-	24	≥32	24 (24)	
Ciprofloxacin	18	17	15	-	1	33 (50)	14	15	5	1	30 (34)	
Levofloxacin	22	-	6	-	1	28 (28)	18	-	5	1	19 (23)	
Amikacin	42	-	-	-	≤2	42 (42)	28	-	-	≤2	27 (28)	
Gentamicin	-	-	1	-	≥16	1 (1)	-	-	-	-	-	

¹ Eén laboratorium gaf wel een antwoord voor het expert resultaat ("I") maar liet het finale resultaat open.

² Eén laboratorium gaf wel een antwoord voor het expert resultaat ("R") maar liet het finale resultaat open.

³ Eén laboratorium gaf wel een antwoord voor het expert resultaat ("R") maar antwoordde "?" voor het finale resultaat.

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 piperacilline-tazobactam vonden 5 laboratoria een MIC van 32 mg/L en 4 laboratoria een MIC van 64 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vond 1 laboratorium een MIC van 16 mg/L, 6 laboratoria een MIC van 32 mg/L en 1 laboratorium een MIC van 64 mg/L
- voor ceftazidime vond 1 laboratorium een MIC ≥4 mg/L en 2 laboratoria een MIC van 16 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vond 1 laboratorium een MIC van 16 mg/L en 2 laboratoria een MIC ≥64 mg/L
- voor cefepime vonden 2 laboratoria een MIC van 2 mg/L en 1 laboratorium een MIC van 16 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vond 1 laboratorium een MIC ≥64 mg/L
- voor meropenem vond 1 laboratorium een MIC van 0.25 mg/L, 3 laboratoria een MIC van 2 mg/L, 6 laboratoria een MIC van 4 mg/L en 1 laboratorium een MIC ≥16 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vond 1 laboratorium een MIC van 2 mg/L, 1 laboratorium een MIC van 4 mg/L en 1 laboratorium een MIC ≥16 mg/L
- voor temocilline vond 1 laboratorium een MIC van 128 mg/L met Vitek 2
- voor ciprofloxacin vonden 17 laboratoria een MIC van 2 mg/L met Vitek 2 en 4 laboratoria dezelfde waarde met Vitek 2 compact
- voor levofloxacin vond 1 laboratorium een MIC van 0.5 mg/L met Vitek 2 compact
- voor amikacin vond 1 laboratorium een MIC van 4 mg/L met Vitek 2 compact

Drie laboratoria gebruikten de ATB methode. De resultaten worden weergegeven in tabel 4.1.12.

Tabel 4.1.12. Resultaten bekomen met de ATB methode voor staal M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers	Resultaat		
		S	I	R
Piperacilline-tazobactam	2	-	-	2
Ceftazidime	2	-	-	2
Cefepime	2	1	-	1
Meropenem	2	1	-	1
Ciprofloxacine	2	-	-	2
Levofloxacine	2	1	-	1
Amikacine	3	3	-	-

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.1.13.

Tabel 4.1.13. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibioticum	Resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/l)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Piperacilline-tazobactam	-	-	17	≥16/4	16 (17)
Ceftazidime	-	13	3	4	15 (16)
Cefepime	4	8	5	2	6 (17)
Ceftriaxone	-	-	1	>4	1 (1)
Cefuroxime	-	-	1	>8	1 (1)
Meropenem	13	1	1	1	9 (15)
Temocilline	-	-	14	>32	14 (14)
Ciprofloxacine	-	1	16	>1	16 (17)
Levofloxacine	2	-	8	≤0.5	5 (10)
Amikacine	17	-	-	≤4	16 (17)

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 piperacilline-tazobactam vond 1 laboratorium een MIC van 64 mg/L
- voor ceftazidime vond 1 laboratorium een MIC van 2 mg/L
- voor cefepime vonden 5 laboratoria een MIC ≤1 mg/L, 2 laboratoria een MIC van 4 mg/L en 4 laboratoria een MIC van 8 mg/L
- voor meropenem vonden 2 laboratoria een MIC van 0.5 mg/L en 4 laboratoria een MIC van 2 mg/L
- voor ciprofloxacine vond 1 laboratorium een MIC van 1 mg/L
- voor levofloxacine vond 1 laboratorium een MIC ≤0.25 mg/L en 4 laboratoria een MIC van 1 mg/L
- voor amikacine vond 1 laboratorium een MIC ≤2 mg/L

Twee laboratoria gebruikten de Microscan voor de bepaling van de gevoeligheid: het ene bekwaam de resultaten "S" voor meropenem en amikacine, "I" voor piperacilline-tazobactam en "R" voor ceftazidime, cefepime, ciprofloxacin en levofloxacin; het andere "S" voor cefepime, meropenem, levofloxacin en amikacine en "I" voor piperacilline-tazobactam, ceftazidime en ciprofloxacin.

Eén laboratorium gebruikte de microdilutie voor de bepaling van de gevoeligheid: het bekwaam de resultaten "S" voor amikacine, "I" voor ceftazidime en cefepime en "R" voor piperacilline-tazobactam, meropenem, temocilline en ciprofloxacin.

Een aantal laboratoria wijzigden het ruw resultaat, al dan niet op basis van expert regels:

- Piperacilline-tazobactam:
 - o S→R
 - Vitek 2 compact: 1 labo
 - o I→R
 - Vitek 2: 2 labos
- Ceftazidime:
 - o S→R
 - Papieren schijfjes: 3 labo's
 - Osiris: 1 labo
 - Papieren schijfjes, afgelezen met Sirscan: 1 labo
 - Neosensitabs (nieuwe ladingen): 3 labo's (mede op basis van andere technieken)
 - Neosensitabs (nieuwe ladingen), afgelezen met Sirscan: 1 labo
 - Vitek 2: 14 labo's (waarvan 1 mede op basis van andere technieken)
 - Vitek 2 compact: 7 labo's (waarvan 1 mede op basis van andere technieken)
 - Microscan: 1 labo
 - o S→I
 - Osiris: 1 labo (mede op basis van andere technieken)
 - Vitek 2: 8 labo's
 - Vitek 2 compact: 4 labo's (waarvan 1 mede op basis van andere technieken)
 - o I→R
 - Papieren schijfjes: 1 labo
 - Neosensitabs (nieuwe ladingen): 1 labo (mede op basis van andere technieken)
 - Vitek 2: 6 labo's (waarvan 2 mede op basis van andere technieken)
 - Vitek 2 compact: 5 labo's
 - ATB: 2 labo's
 - Phoenix: 3 labo's
- Cefepime:
 - o S→R
 - Papieren schijfjes: 1 labo
 - Papieren schijfjes, afgelezen met Sirscan: 1 labo
 - Neosensitabs (nieuwe ladingen): 2 labo's (mede op basis van andere technieken)
 - Vitek 2: 5 labo's
 - Vitek 2 compact: 7 labo's

- Microscan: 1 labo
- S→I
 - Papieren schijfjes: 1 labo
 - Osiris: 1 labo (mede op basis van andere technieken)
 - Papieren schijfjes, afgelezen met Sirscan: 1 labo (mede op basis van andere technieken)
 - Neosensitabs (nieuwe ladingen): 1 labo (mede op basis van andere technieken)
 - Vitek 2: 28 labo's (waarvan 1 mede op basis van andere technieken)
 - Vitek 2 compact: 20 labo's (waarvan 1 mede op basis van andere technieken)
 - Phoenix: 1 labo
- I→R
 - Neosensitabs (nieuwe ladingen): 1 labo
 - ATB: 1 labo
 - Phoenix: 1 labo
- Meropenem:
 - S→R
 - Papieren schijfjes: 2 labo's (mede op basis van andere technieken)
 - Osiris: 1 labo (mede op basis van andere technieken)
 - Neosensitabs (nieuwe ladingen): 1 labo (mede op basis van andere technieken)
 - Vitek 2: 3 labo's
 - Vitek 2 compact: 5 labo's (waarvan 1 mede op basis van andere technieken)
 - Phoenix: 1 labo (mede op basis van andere technieken)
 - S→I
 - Papieren schijfjes: 1 labo
 - Osiris: 1 labo
 - Papieren schijfjes, afgelezen met Sirscan: 1 labo (mede op basis van andere technieken)
 - Neosensitabs (nieuwe ladingen): 1 labo (mede op basis van andere technieken)
 - MICE: 1 labo
 - Mic test Strip: 1 labo (mede op basis van andere technieken)
 - Vitek 2: 7 labo's (waarvan 1 mede op basis van andere technieken)
 - Vitek 2 compact: 6 labo's (waarvan 2 mede op basis van andere technieken)
 - Phoenix: 1 labo
 - I→R
 - Neosensitabs (nieuwe ladingen): 2 labo's (mede op basis van andere technieken)
 - Vitek 2: 2 labo's (d waarvan 1 mede op basis van andere technieken)
 - Vitek 2 compact: 1 labo
 - ATB: 1 labo
- Imipenem:
 - I→R
 - E-test: 1 labo

- Ciprofloxacin:
- o S→R
 - Vitek 2: 1 labo
- o I→R
 - Papieren schijfjes: 1 labo (mede op basis van andere technieken)
 - Osiris: 1 labo (mede op basis van andere technieken)
 - Papieren schijfjes, afgelezen met Sirscan: 1 labo
 - Vitek 2: 6 labo's (waarvan 1 mede op basis van andere technieken)
 - Vitek 2 compact: 1 labo
- Levofloxacin:
- o S→R
 - Papieren schijfjes: 1 labo
 - Papieren schijfjes, afgelezen met Sirscan: 1 labo
 - Vitek 2: 5 labo's
 - Vitek 2 compact: 4 labo's (waarvan 2 mede op basis van andere technieken)
 - Phoenix: 5 labo's
 - Microscan: 1 labo
- o I→R
 - Vitek 2: 1 labo
 - Vitek 2 compact: 1 labo
 - ATB: 1 labo

4.2 Cultuur M/12961 *Enterobacter cloacae*

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 (4.2.1) het meest resistente resultaat weer te geven (uitzondering voor meropenem: cfr. tabel).

Een groot aantal laboratoria voorzagen hun antwoord van een (vaak uitgebreide) opmerkingen; om reden van vereenvoudiging en leesbaarheid hebben wij deze opmerkingen hieronder gegroepeerd in grote lijnen:

- Aanwezigheid van carbapenemase, (vermoedelijk) VIM metallo-betalactamase: 13 labo's
 - o 2 hiervan: + ESBL
 - o 1 hiervan: ESBL negatief
- Aanwezigheid van carbapenemase, vermoedelijk metallo-betalactamase: 23 labo's
 - o 1 hiervan: ESBL negatief
- Aanwezigheid van carbapenemase, vermoedelijk KPC of metallo-betalactamase: 1 labo
- Aanwezigheid van carbapenemase, vermoedelijk OXA-48: 5 labo's
- Aanwezigheid van carbapenemase, niet OXA-48 of KPC: 1 labo
- (Vermoeden van) aanwezigheid van carbapenemase: 55 labo's
 - o 7 hiervan: + (vermoeden) ESBL
 - o 2 hiervan: ESBL negatief

Tabel 4.2.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Piperacilline-tazobactam	R	147	-	-	147	-
Ceftazidime	R	149	-	1	148	-
Cefepime	R	143	-	15	128	-
Cefazoline ¹		1	-	-	1	-
Cefotaxime ²		1	-	-	1	-
Ceftriaxone ³		1	-	-	1	-
Cefuroxime ^{1,2,3}		3	-	-	3	-
Meropenem	R	154	3	22	124	5 ⁴
Imipenem ⁵		3	-	1	2	-
Ertapenem ^{5,6}		7	-	-	7	-
Temocilline	R	130	-	-	130	-
Ciprofloxacine	S	144	142	1	1	-
Levofloxacine	S	71	69	1	1	-
Ofloxacin ⁷		1	1	-	-	-
Norfloxacine ⁷		1	1	-	-	-
Amikacine	S/I	130	67	53	10	-
Gentamicine ⁸		3	-	1	2	-

¹ Eén laboratorium bepaalde naast de gevoeligheid voor ceftazidime en cefepime ook deze voor cefazoline en cefuroxime.

² Eén laboratorium bepaalde naast de gevoeligheid voor ceftazidime en cefepime ook deze voor cefotaxime en cefuroxime.

³ Eén laboratorium bepaalde naast de gevoeligheid voor ceftazidime en cefepime ook deze voor ceftriaxone en cefuroxime.

- ⁴ Eén laboratorium gaf wel een antwoord voor het ruw resultaat ("S") maar antwoordde "vermoeden van carbapenemase" voor het finale resultaat. Vier laboratoria bekwamen het resultaat "S" met de diskdiffusie en voerden vervolgens een MIC-bepaling uit die het resultaat "I" opleverde;
- ⁵ Drie laboratoria bepaalden naast de gevoeligheid voor meropenem ook deze voor imipenem en ertapenem.
- ⁶ Vier laboratoria bepaalden naast de gevoeligheid voor meropenem ook deze voor ertapenem.
- ⁷ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor ofloxacin en norfloxacin in plaats van voor levofloxacin.
- ⁸ Twee laboratoria bepaalden naast de gevoeligheid voor amikacin ook deze voor gentamicine. Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor gentamicine in plaats van voor amikacin

Het in de tabellen 4.2.2. tot en met 4.2.13. weergegeven resultaat is het finale resultaat, na eventuele wijziging via toepassing der expert-regels.

De resultaten van de laboratoria die de diameter van de papieren schijfjes manueel afgelezen hebben, vindt u in tabel 4.2.2. 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. **Ingeval van groei tot tegen het schijfje, dient u de diameter van het schijfje te noteren (en niet "0").**

De resultaten van de laboratoria die Osiris, Adagio of Sirscan gebruikt hebben om de diameters van de papieren schijfjes af te lezen vindt u in tabellen 4.2.3., 4.2.4 en 4.2.5. De berekeningen van mediaan, minimum en maximum zijn echter niet uitgevoerd voor Osiris omwille van het beperkte aantal deelnemers voor deze methode.

Tabel 4.2.2. Bekomen diameters met de papieren schijfjes voor staal M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Piperacilline-tazobactam ¹	(19)				-	-	19
	11	30 + 6	6	6 – 13	-	-	11
	8	100 + 10	8	6 – 9	-	-	8
Ceftazidime ¹	(19)				-	1	18
	8	10	6	6 – 6	-	-	8
	11	30	6	6 – 7	-	1	10
Cefepime	14 (14)	30	11.5	6 – 15	-	-	14
Meropenem	17 (17)	10	16	9 – 20	-	8	9
Imipenem	1 (1)	10	16	-	-	-	1
Ertapenem	2 (3)	10	18.5	18 – 19	-	-	3
Temocilline	17 (18)	30	6	6 – 10	-	-	18
Ciprofloxacin	18 (18)	5	31.5	23 – 38	18	-	-
Levofloxacin	6 (6)	5	27.5	23 – 33	6	-	-
Amikacin	19 (19)	30	17	14 – 20	13	4	2

¹ Voor deze beide antibiotica worden 2 verschillende ladingen vermeld

Tabel 4.2.3. Resultaten bekomen met de Osiris voor staal M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

Antibioticum	Aantal gebruikers	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
		S	I	R
Piperacilline-tazobactam	2	-	-	2
Ceftazidime	1	-	-	1
Cefepime	2	-	-	2
Meropenem	2	-	1	1
Temocilline	2	-	-	2
Ciprofloxacin	2	2	-	-
Amikacine	2	2	-	-

Tabel 4.2.4. Resultaten bekomen met de Adagio voor M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Piperacilline-tazobactam ¹	(6)				-	-	6
	2	30 + 6	6	6 – 6	-	-	2
	4	100 + 10	7.5	6 – 9	-	-	4
Ceftazidime ¹	(6)				-	-	6
	2	10	6	6 – 6	-	-	2
	4	30	6	6 – 6	-	-	4
Cefepime	6 (6)	30	11	10 – 14	-	-	6
Cefazoline	1 (1)	30	6	-	-	-	1
Cefuroxime	1 (1)	30	6	-	-	-	1
Meropenem	5 (5)	10	15	12 – 17	-	-	5
Imipenem	1 (1)	10	14	-	-	-	1
Ertapenem	1 (1)	10	17	-	-	-	1
Temocilline	5 (5)	30	6	6 – 6	-	-	5
Ciprofloxacin ¹	(4)				4	-	-
	3	5	32	30 – 35	3	-	-
	1	30	18	-	1	-	-
Levofloxacin	2 (2)	5	28.5	25 – 32	2	-	-
Ofloxacin	1 (1)	5	27	-	1	-	-
Norfloxacin	1 (1)	10	30	-	1	-	-
Amikacine	6 (6)	30	17	15 – 22	4	2	-
Gentamicine	1 (1)	10	13	-	-	-	1

¹ Voor deze drie antibiotica worden 2 verschillende ladingen vermeld

Tabel 4.2.5. Resultaten bekomen met de Sirscan met de papieren schijfjes staal M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Piperacilline-tazobactam ¹	(6)				-	-	6
	5	30 + 6	10	6 – 12	-	-	5
Ceftazidime ¹	1	100 + 10	13	-	-	-	1
	(7)				-	-	7
	6	10	6	6 – 6	-	-	6
	1	30	6	-	-	-	1
Cefepime	7 (7)	30	14	6 – 16	-	1	6
Meropenem	6 (6)	10	17	14 – 19	1	2	3
Temocilline	6 (6)	30	6	6 – 9	-	-	6
Ciprofloxacin	5 (6) ²	5	38	26 – 38	5	-	1
Levofloxacin	1 (1)	5	36	-	1	-	-
Amikacine	6 (6)	30	18	16 – 18	5	1	-

¹ Voor deze beide antibiotica worden 2 verschillende ladingen vermeld

² Het laboratorium dat "R" antwoordde, vermeldde een diameter van 5 mm.

In tabellen 4.2.6. a en b vermeldden wij voor de Neosensitabs schijfjes de resultaten bekomen met manuele aflezing. Enkel voor de schijfjes met nieuwe ladingen (« new ») waren er echter voldoende deelnemers om op statistisch zinvolle manier mediaan, minimum en maximum te bepalen. In tabel 4.2.7. worden de resultaten van de schijfjes met nieuwe ladingen die met de Sirscan afgelezen werden, weergegeven.

Geen enkel laboratorium las de Neosensitabs met de klassieke ladingen ("old") af met de Sirscan.

Tabel 4.2.6a. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (klassieke Neosensitabs ladingen) voor staal M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

Antibioticum	Aantal gebruikers	Resultaat		
		S	I	R
Piperacilline-tazobactam	1	-	-	1
Temocilline	4	-	-	4
Levofloxacin	1	-	1	-
Amikacine	1	-	-	1

Tabel 4.2.6b. Bekomen diameters met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/12961 (*Enterobacter cloacae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)			
					S	I	R	*
Piperacilline-tazobactam ¹	(11)				-	-	11	-
	4 ²	30 + 6	9	9 – 11	-	-	4	-
Ceftazidime ¹	6	100 + 10	10	9 – 12	-	-	6	-
	(12)				-	-	12	-
	4 ³	10	9	9 – 11	-	-	4	-
	6 ⁴	30	10	10 – 9	-	-	6	-
Cefepime	8 (10) ⁵	30	12.5	9 – 15	-	-	10	-
Meropenem	9 (11) ⁶	10	17	11 – 30	-	2	8	1 ⁷
Temocilline	9 (11) ⁸	30	9	9 – 11	-	-	11	-
Ciprofloxacin	10 (10)	5	31	20 – 37	9	1	-	-
Levofloxacin	3 (3)	5	25	23 – 30	3	-	-	-
Amikacin	9 (11)	30	17	16 – 18	6	4	1	-

¹ Voor deze beide antibiotica worden 2 verschillende ladingen vermeld.

² Tevens vermeldde één laboratorium een diameter <9 mm ("R").

³ Tevens vermeldde één laboratorium een diameter <9 mm ("R").

⁴ Tevens vermeldde één laboratorium een diameter <10 mm ("R").

⁵ Tevens vermeldde één laboratorium een diameter <9 mm ("R") en één laboratorium een

⁶ diameter < 10 mm ("R").

⁷ Tevens vermeldde één laboratorium een diameter <10 mm ("R").

⁸ Eén laboratorium verwees naar het resultaat ("I") van de MIC-bepaling die het uitvoerde.

⁹ Tevens vermeldde één laboratorium een diameter <9 mm ("R") en antwoordde één laboratorium een diameter "0".

Tabel 4.2.7 Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

Antibioticum	Aantal gebruikers	Resultaat		
		S	I	R
Piperacilline-tazobactam	3	-	-	3
Ceftazidime	2	-	-	2
Cefepime	2	-	-	2
Meropenem	3	1	2	-
Temocilline	2	-	-	2
Ciprofloxacin	1	1	-	-
Levofloxacin	1	1	-	-
Amikacin	2	2	-	-

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

Tabel 4.2.8. Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor staal M/12961 (*Enterobacter cloacae*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Piperacilline-tazobactam	4	4 x R	4 x \geq 256 mg/L
Ceftazidime	1	1 x R	\geq 256 mg/L
Cefepime	3	3 x R	32 mg/L; 48 mg/L; \geq 256 mg/L
Meropenem	17	2 x S 4 x I 11 x R	1.5 mg/L; 2 mg/L 2 x 2 mg/L; 3 mg/L; 8 mg/L 8 mg/L; 12 mg/L; 16 mg/L; 8 x \geq 32 mg/L
Imipenem	2	1 x I 1 x R	3 mg/L \geq 32 mg/L
Ertapenem	2	2 x R	2 x \geq 32 mg/L
Temocilline	13	13 x R	256 mg/L; 2 x 384 mg/L; 512 mg/L; 9 x \geq 1024 mg/L
Ciprofloxacin	4	4 x S	0.012 mg/L; 0.016 mg/L; 2 x 0.25 mg/L
Levofloxacin	2	2 x S	2 x 0.064 mg/L
Amikacine	2	2 x I	2 x 12 mg/L

Acht laboratoria gebruikten de MICE-test voor de bepaling van de gevoeligheid voor meropenem; de resultaten zijn samengevat in onderstaande tabel.

Tabel 4.2.9. Resultaten bekomen MIC-waarden met de MICE-test voor staal M/12961 (*Enterobacter cloacae*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Méropénème	8	1 x S 2 x I 4 x R 1 x vermoeden van carbapenemase ¹	1 mg/L 3 mg/L; >4 mg/L 4 mg/L; 12 mg/L; 2 x >32 mg/L 2 mg/L

¹ Eén laboratorium gaf wel een antwoord voor het ruw resultaat ("S") maar antwoordde "vermoeden van carbapenemase" voor het finale resultaat.

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

Tabel 4.2.10. Resultaten bekomen MIC-waarden met de MIC test Strip voor staal M/12961 (*Enterobacter cloacae*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Meropenem	12	2 x S 4 x I 6 x R	0.5 mg/L; 1.5 mg/L 0.5 mg/L; 2 mg/L; 2 x 3 mg/L 24 mg/L; 5x \geq 32 mg/L
Ertapenem	1	1 x R	1 mg/L

De resultaten bekomen met de Vitek worden weergegeven in tabel 4.2.11.

Tabel 4.2.11. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

Antibioticum	Vitek 2					Vitek 2 compact				
	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/L)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/L)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R			S	I	R		
Piperacilline-tazobactam	-	-	54	≥128	54 (54)	-	-	36	≥128	36 (36)
Ceftazidime	-	-	56	≥64	55 (56)	-	-	36	≥64	36 (36)
Cefepime	-	8	47	16	30 (55)	-	6	29	16	23 (35)
Cefotaxime	-	-	-	-	-	-	-	1	≥64	1 (1)
Cefuroxime	-	-	-	-	-	-	-	1	≥64	1 (1)
Meropenem	-	1	51	≥16	52 (52)	-	-	30	≥16	30 (30)
Ertapenem	-	-	-	-	-	-	-	1	4	1 (1)
Temocilline	-	-	42	≥32	42 (42)	-	-	26	≥32	26 (26)
Ciprofloxacin	54	-	-	≤0.25	54 (54)	34	-	-	≤0.25	33 (34)
Levofloxacin	31	1	1	1	13 (31)	22	-	-	1	9 (22)
Amikacin	12	28	3	16	36 (43)	9	18	2	16	24 (29)
Gentamicin	-	-	1	8	1 (1)	-	1	-	4	1 (1)

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 ceftazidime vond 1 laboratorium een MIC ≥32 mg/L met Vitek 2
- voor cefepime vond 1 laboratorium een MIC van 4 mg/L, 4 laboratoria een MIC van 32 mg/L en 20 laboratoria een MIC ≥64 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vond 1 laboratorium een MIC van 32 mg/L en 11 laboratoria een MIC ≥64 mg/L
- voor ciprofloxacin vond 1 laboratorium een MIC ≤0.5 mg/L met Vitek 2
- voor levofloxacin vonden 11 laboratoria een MIC ≤0.12 mg/L, 3 laboratoria een MIC ≤0.25 mg/L en 4 laboratoria een MIC van 0.5 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vonden 8 laboratoria een MIC ≤0.12 mg/L en 5 laboratoria een MIC van 0.5 mg/L
- voor amikacin vond 1 laboratorium een MIC van 4 mg/L, 4 laboratoria een MIC van 8 mg/L en 2 laboratoria een MIC van 32 mg/L met Vitek 2; met Vitek 2 compact vond 1 laboratorium een MIC van 4 mg/L, 1 laboratorium een MIC van 8 mg/L en 3 laboratoria een MIC van 32 mg/L

Drie laboratoria gebruikten de ATB methode voor de bepaling van de gevoeligheid: de resultaten worden weergegeven in tabel 4.2.12.

Tabel 4.2.12 Resultaten bekomen met de ATB methode voor staal M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>		
		<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Piperacilline-tazobactam	2	-	-	2
Ceftazidime	2	-	-	2
Cefepime	2	-	-	2
Meropenem	2	-	-	2
Ciprofloxacin	2	2	-	-
Levofloxacin	2	1	-	1
Amikacin	2	1	-	1

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in tabel 4.2.13.

Tabel 4.2.13. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

<i>Antibioticum</i>	<i>Resultaat</i>			<i>Meest vermelde MIC waarde (mg/l)</i>	<i>Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)</i>
	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>		
Piperacilline-tazobactam	-	-	18	≥16/4	17 (18)
Ceftazidime	-	-	17	>8	16 (17)
Cefepime	-	-	18	>8	18 (18)
Ceftriaxone	-	-	1	>4	1 (1)
Cefuroxime	-	-	1	>8	1 (1)
Meropenem	-	5	12	>8	10 (17)
Temocilline	-	-	12	>32	12 (12)
Ciprofloxacin	18	-	-	≤0.25	17 (18)
Levofloxacin	2	-	-	≤0.5	2 (2)
Amikacin	17	1	-	8	18 (18)

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 piperacilline-tazobactam vond 1 laboratorium een MIC >64 mg/L
- voor ceftazidime vond 1 laboratorium een MIC >16 mg/L
- voor meropenem vonden 7 laboratoria een MIC van 8 mg/L
- voor ciprofloxacin vond 1 laboratorium een MIC ≤0.125 mg/L

Twee laboratoria gebruikten de Microscan voor de bepaling van de gevoeligheid: beiden bekwamen het resultaat "R" voor piperacilline-tazobactam, ceftazidime en cefepime en het resultaat "S" voor ciprofloxacin, levofloxacin en amikacin; voor meropenem bekwam het ene laboratorium het resultaat "I" en het andere "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::

- Cefepime:
 - o I→R
 - Neosensitabs (nieuwe ladingen): 1 labo (mede op basis van andere technieken)
 - Vitek 2: 7 labo's (waarvan 2 mede op basis van andere technieken)
 - Vitek 2 compact: 3 labo's (waarvan 1 mede op basis van andere technieken)
- Meropenem:
 - o S→I
 - E-test: 1 labo
 - MICE: 1 labo (mede op basis van andere technieken)
 - o I→R
 - Neosensitabs (nieuwe ladingen): 2 labo's (mede op basis van andere technieken)
 - Phoenix: 1 labo (mede op basis van andere technieken)
 - o R→I
 - Vitek 2: 1 labo (mede op basis van andere technieken)
- Amikacin:
 - o S→I
 - Vitek 2: 8 labo's (waarvan 1 mede op basis van andere technieken)
 - Vitek 2 compact: 4 labo's (waarvan 1 mede op basis van andere technieken)
 - Phoenix: 1 labo (mede op basis van andere technieken)
 - o I→R
 - Papieren schijfjes: 1 labo
 - Vitek 2: 1 labo
- Gentamicin:
 - o I→R
 - Vitek 2: 1 labo

5.1 De monsters

Ter gelegenheid van deze enquête werden 2 bloeditstrijkjes verzonden.

162 laboratoria namen deel aan de enquête.

Het aantal toolkit gebruikers bedroeg 91.4%. 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,...

Indien u meerdere evolutiestadia van eenzelfde parasiet voor één staal wenst te rapporteren, kan u deze zelfde parasiet 2 (of 3) maal invullen per staal met telkens een ander evolutiestadium.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische informatie:

P/12582

Een man is 8 weken geleden in de democratische republiek Congo geweest. Hij heeft sinds één week om de twee dagen koorts. Hij heeft geen diarree en geen hoest.

P/12688

Een 58-jarige vrouw heeft een reis gemaakt naar Mali. Ze heeft geen profylaxe genomen. Enkele dagen na haar terugkeer vertoont zij een eerder matige koorts. Zij voelt zich niet erg ziek.

Staal P/12582 bevatte trofozoïeten van *Plasmodium ovale*.

Staal P/12688 bevatte trofozoïeten van *Plasmodium falciparum*.

Beide resultaten werden ook via PCR bevestigd.

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

5.2 Staal P/12582

161 laboratoria hebben een antwoord ingestuurd: zij hebben 162 parasieten geïdentificeerd. 160 laboratoria antwoordden één parasiet en 1 laboratorium antwoordde 2 parasieten. Wij herhalen dat als u geen parasieten waargenomen hebt, u "Afwezigheid van parasieten" dient te antwoorden en niet het antwoord open laten.

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.2.1 Resultaten voor staal P/12582

Resultaat	Aantal
<i>Plasmodium ovale</i>	84
<i>Plasmodium non-falciparum</i>	48
<i>Plasmodium species</i>	1
<i>Plasmodium vivax</i>	20
<i>Plasmodium malariae</i>	3
<i>Plasmodium falciparum</i>	6
Totaal	162

Het laboratorium dat de aanwezigheid van 2 parasieten vermeldde, antwoordde "*P. ovale* + *P. vivax*".

Meerdere laboratoria (met verschillende antwoorden) vermeldden dat ze in routine ook een antigenetest zouden uitvoeren.

Twee laboratoria die *P. ovale* antwoordden, vermeldden dat ze in routine *Plasmodium non-falciparum* zouden antwoorden; één laboratorium dat *P. ovale* antwoordde, vermeldde in een opmerking "*P. ovale* of *P. vivax*".

Twee laboratoria die *Plasmodium non-falciparum* antwoordden, vermeldden dat het waarschijnlijk *P. ovale* betreft; twee dat het *P. ovale* of *P. vivax* betreft en één dat het *P. malariae*, *P. ovale* of beide betreft.

Een aantal laboratoria hadden moeite om een optimale kleuring te bekomen.

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Plasmodium ovale* worden in tabel 5.2.2. weergegeven. 62 laboratoria hebben 1 evolutiestadium geantwoord, 19 twee evolutiestadia en 3 drie evolutiestadia. De combinaties van de evolutiestadia worden weergegeven in tabel 5.2.3.

Tabel 5.2.2 Evolutiestadia voor *Plasmodium ovale* voor staal P/12582

Evolutiestadium	Aantal
Trofozoïet	80
Schizont	22
Gametocyt	7
Totaal	109

Tabel 5.2.3 Combinaties van de evolutiestadia voor *Plasmodium ovale* voor staal P/12582

<i>Aantal stadia</i>	<i>Evolutiestadium</i>	<i>Aantal</i>
1 stadium	Trofozoïet	58
	Schizont	4
2 stadia	Trofozoïet + schizont	15
	Trofozoïet + gametocyt	4
3 stadia		3
<i>Totaal</i>		84

Eén laboratorium vermeldde de aanwezigheid van 1 à 2 schizonten per plaatje. Voor de overige laboratoria wordt een overzicht van de aantallen per evolutiestadium weergegeven in tabel 5.2.4.

Tabel 5.2.4 Aantal parasieten per evolutiestadium voor *Plasmodium ovale* voor staal P/12582.

<i>%o</i>	<i>Aantal labo's</i>		
	<i>Trofozoïet</i>	<i>Gametocyt</i>	<i>Schizont</i>
<1	36	7	17
1	15		2
1 à 2	10		
2	5		2
2 à 3	2		
3 à 4	2		
4	1		
5	3		
6	1		
8	1		
5 à 10	2		
10	2		

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Plasmodium non-falciparum* worden in tabel 5.2.5. weergegeven. 39 laboratoria hebben 1 evolutiestadium geantwoord (trofozoïet) en 9 twee evolutiestadia (6 trofozoïet + schizont en 3 trofozoïet + gametocyt).

Tabel 5.2.5 Evolutiestadia voor *Plasmodium non-falciparum* voor staal P/12582

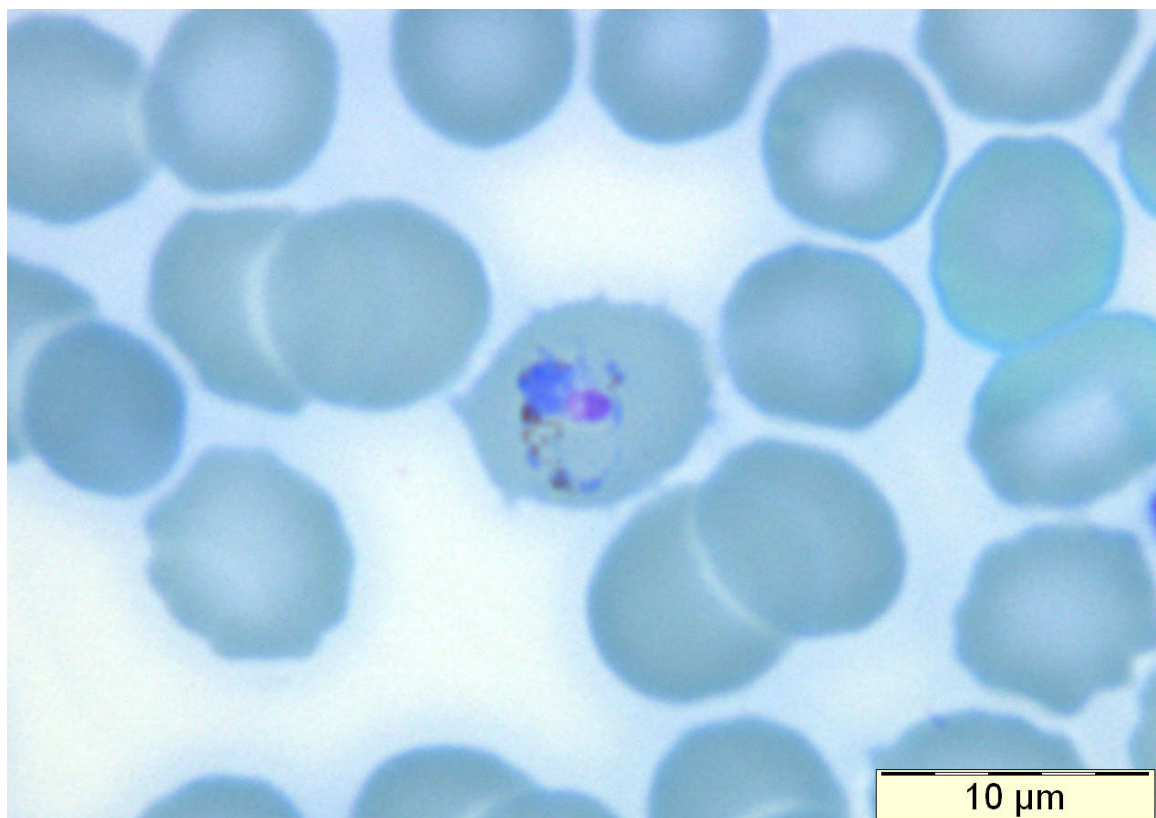
<i>Evolutiestadium</i>	<i>Aantal</i>
Trofozoïet	48
Schizont	6
Gametocyt	3
<i>Totaal</i>	57

Eén laboratorium vermeldde de aanwezigheid van 1 gametocyt per plaatje. Voor de overige laboratoria wordt een overzicht van de aantallen per evolutiestadium weergegeven in tabel 5.2.6.

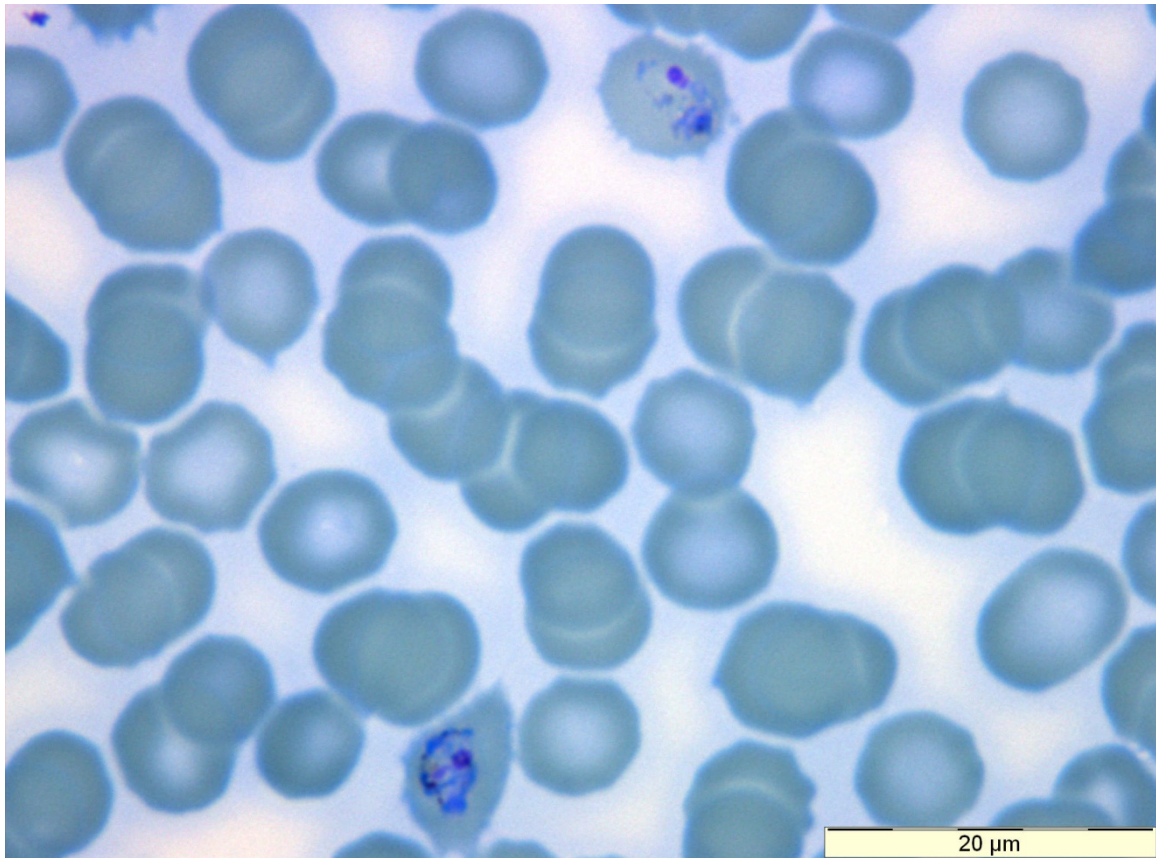
Tabel 5.2.6 Aantal parasieten per evolutiestadium voor *Plasmodium non-falciparum* voor staal P/12582

%o	Aantal labo's		
	Trofozoïet	Gametocyt	Schizont
<1	24	2	4
1	10		
1 à 2	6		
2	2		1
2 à 3			1
3	2		
5	1		
7	2		
5 à 10	1		

102 laboratoria zouden het staal in routine naar een referentiecentrum doorsturen voor (bevestiging van) de identificatie: 46 laboratoria die *P. ovale* antwoordden, 39 laboratoria die *Plasmodium non-falciparum* antwoordden, 10 die *P. vivax* antwoordden, 4 die *P. falciparum* antwoordden, 1 dat *P. malariae* antwoordde, 1 dat *P. ovale* + *P. vivax* antwoordde en het laboratorium dat het antwoord openliet.



Figuur 5.1. P/12582 *P. ovale* (fimbriated Red Blood cell)



Figuur 5.2. P/12582 *P. ovale*

5.3 Staal P/12688

De 162 laboratoria leverden 164 antwoorden in. Drie laboratoria antwoordden "afwezigheid van parasieten", 157 laboratoria antwoordden één parasiet en 2 laboratoria 2 parasieten.

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.3.1 Resultaten voor staal P/12688

Resultaat	Aantal
<i>Plasmodium falciparum</i>	151
<i>Plasmodium non-falciparum</i>	3
<i>Plasmodium vivax</i>	3
<i>Plasmodium malariae</i>	2
<i>Babesia</i> species	2
Afwezigheid van parasieten	3
Totaal	164

De laboratoria die de combinatie van 2 parasieten vermeldden, antwoordden respectievelijk "*P. falciparum* + *P. malariae*" en "*P. falciparum* + *P. vivax*".

Van de laboratoria die *P. falciparum* antwoordden:

- Vermeldden 4 dat ze een Ag-test zouden uitvoeren en het staal naar het referentiecentrum doorsturen
- Vermeldden 3 dat ze een Ag-test zouden uitvoeren
- Vermeldden 2 expliciet dat ze het staal naar het referentiecentrum zouden doorsturen wegens de lage parasitemie
- Vermeldden 3 andere eveneens dat er een lage parasitemie aanwezig is
- Vermeldde 1 dat een menginfectie niet uit te sluiten is

Eén van de laboratoria die *Babesia* species antwoordde, vermeldde in routine een Ag-test uit te voeren om *Plasmodium* uit te sluiten. Eén van de laboratoria die "afwezigheid" antwoordde, vermeldde dat een dikdruppel noodzakelijk is (ondermeer omdat ze moeite hadden een correcte kleuring te bekomen).

Een aantal laboratoria hadden moeite om een optimale kleuring te bekomen.

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Plasmodium falciparum* worden in tabel 5.3.2. weergegeven. 146 laboratoria hebben 1 evolutiestadium geantwoord en 5 laboratoria hebben 2 evolutiestadia geantwoord. De combinaties van de evolutiestadia worden weergegeven in tabel 5.3.3.

Tabel 5.3.2 Evolutiestadia voor *Plasmodium falciparum* voor staal P/12688

Evolutiestadium	Aantal
Trofozoïet	150
Gametocyt	4
Schizont	2
Totaal	156

Tabel 5.3.3 Combinaties van de evolutiestadia voor *Plasmodium falciparum* voor staal P/12688

<i>Aantal stadia</i>	<i>Evolutiestadium</i>	<i>Aantal</i>
1 stadium	Trofozoïet	145
	Schizont	1
2 stadia	Trofozoïet + gametocyt	4
	Trofozoïet + schizont	1
Totaal		151

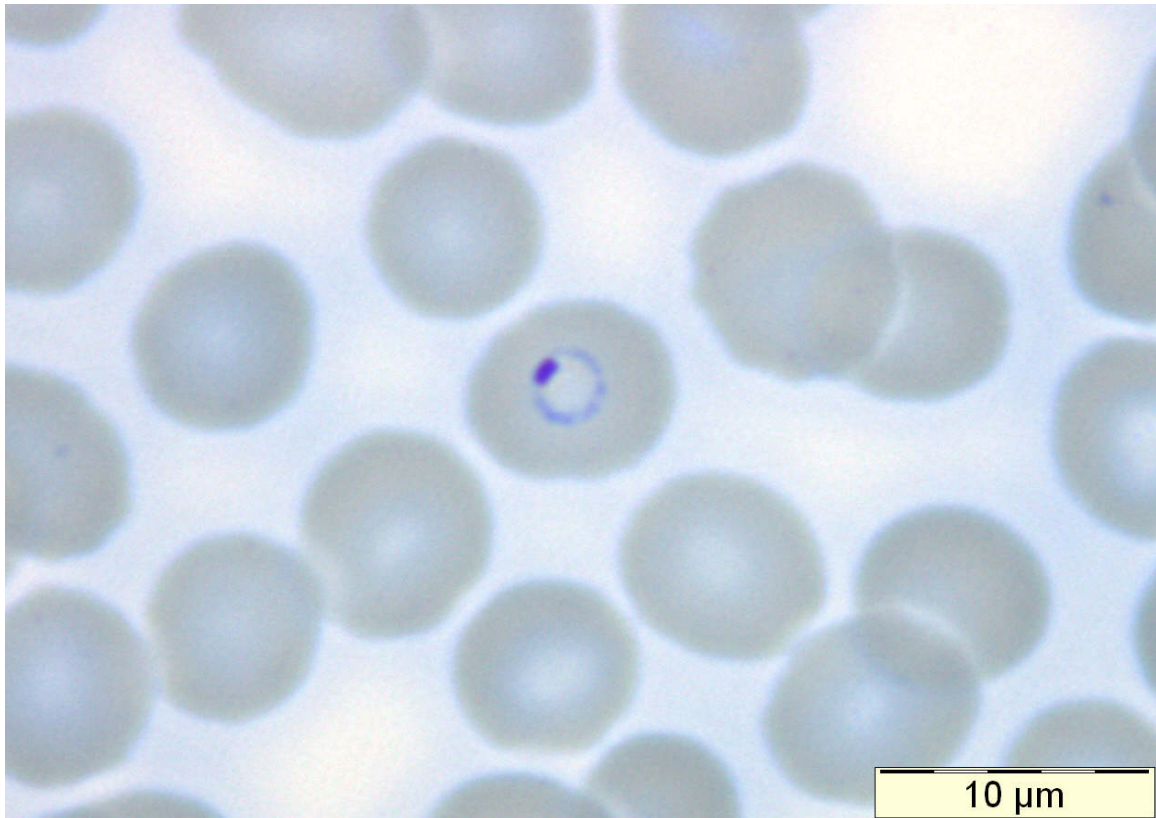
Eén laboratorium vermeldde de aanwezigheid van 2 trofozoïeten per plaatje, 1 de aanwezigheid van 5 à 10 trofozoïeten per plaatje en 1 de aanwezigheid van 10 trofozoïeten per plaatje.

Voor de overige laboratoria wordt een overzicht van de aantallen per evolutiestadium weergegeven in tabel 5.3.4.

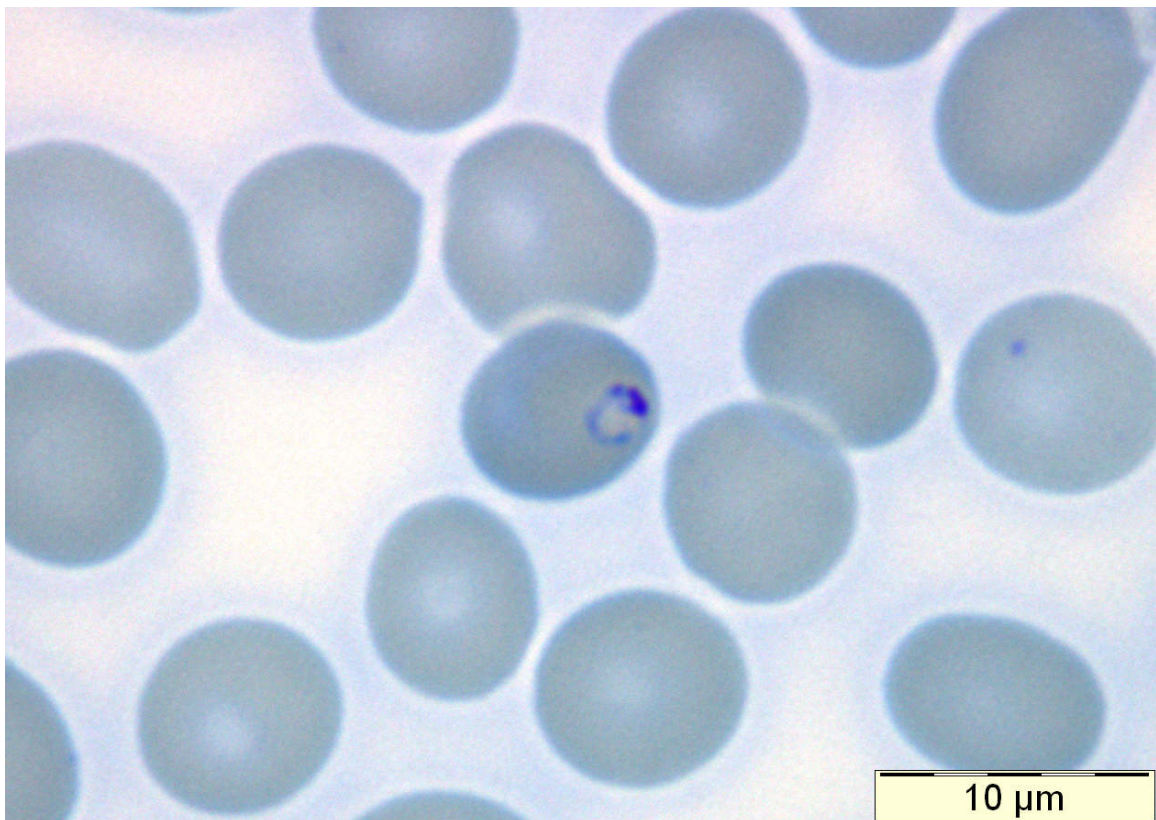
Tabel 5.2.4 Aantal parasieten per evolutiestadium voor *Plasmodium falciparum* voor staal P/12688.

‰	<i>Aantal labo's</i>		
	<i>Trofozoïet</i>	<i>Gametocyt</i>	<i>Schizont</i>
<1	49	2	1
1	26	2	
1 à 2	25		
2	10		
2 à 3	13		
3	6		
3 à 4	2		
4	5		
5	3		
6	1		
7	3		
8	1		1
5 à 10	1		
10	2		

92 laboratoria zouden het staal in routine naar een referentiecentrum doorsturen voor (bevestiging van) de identificatie: 84 laboratoria die *P. falciparum* antwoordden, 3 laboratoria die *Plasmodium non-falciparum* antwoordden, 1 dat *P. vivax* antwoordde, 1 dat *P. falciparum* + *P. malariae* antwoordde, 2 die *Babesia* species antwoordden en 1 laboratorium dat "afwezigheid" antwoordde (dit is het hoger vermeldde laboratorium dat eveneens een dikdruppel zou vragen).



Figuur 5.3. P/12688 *P. falciparum*



Figuur 5.4. P/12688 *P. falciparum*

5.4 Commentaar

Naar analogie met voorgaande enquêtes van bloedparasieten is in Tabel 1 en Tabel 2 de indeling van de resultaten te zien in correcte resultaten en *major* en *minor errors* waarbij het missen en het ten onrechte antwoorden van een *P. falciparum* en het antwoorden van *Plasmodium* species zonder uitspraak over de aan- of afwezigheid van *P. falciparum* als een 'major error' wordt beschouwd, dit omwille van de verschillende behandeling van een infectie met *P. falciparum*.

Zoals door verschillende laboratoria aangegeven, kan men in praktijk beschikken over de resultaten van de Ag-test om het antwoord te sturen, dit op voorwaarde dat de parasitemie voldoende hoog is. De beoordelingen hier weergegeven betreffen louter het microscopisch resultaat.

Tabel 1 Beoordeling van de resultaten van staal P/12582

Groep	Aantwoord	Commentaar	Score (n, %)
Groep I	<i>P. ovale</i>	Correct	83 (51.6%)
	<i>Plasmodium non-falciparum</i> , waarschijnlijk <i>P. ovale</i>		2 (1.2%)
Groep II	<i>Plasmodium non-falciparum</i>	Minor error Aanvaardbaar	43 (26.7%)
	<i>Plasmodium non-falciparum</i> , <i>P. ovale</i> of <i>P. vivax</i>		2 (1.2%)
	<i>Plasmodium non-falciparum</i> , <i>P. ovale</i> en/of <i>P. malariae</i>		1 (0.6%)
	<i>P. vivax</i>		19 (11.8%)
	<i>P. malariae</i>		3 (1.9%)
	<i>P. ovale</i> + <i>P. vivax</i>		1 (0.6%)
Groep III	<i>P. falciparum</i>	Major error*	6 (3.7%)
	<i>Plasmodium species</i>		1 (0.6%)

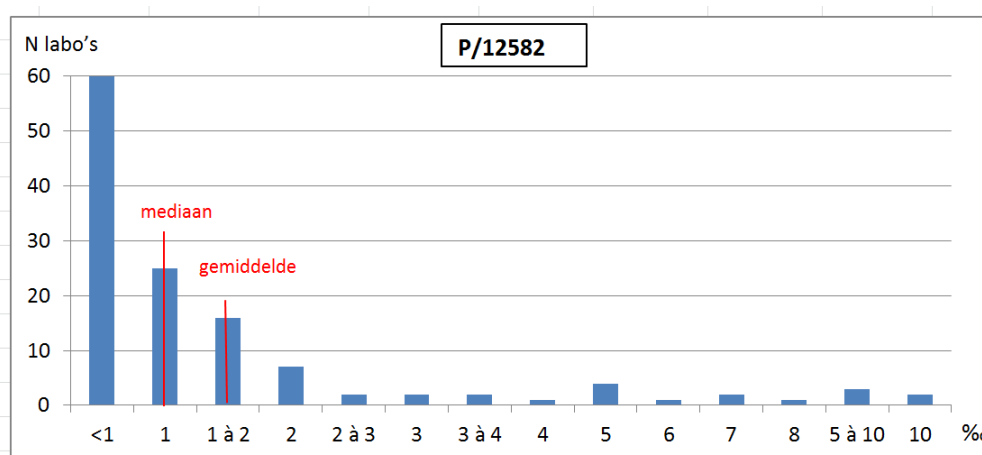
Tabel 2 Beoordeling van de resultaten van staal P/12688

Groep	Aantwoord	Commentaar	Score (n, %)
Groep I	<i>P. falciparum</i>	Correct	149 (92.0%)
Groep II	<i>P. falciparum</i> + <i>P. malariae</i>	Minor error	1 (0.6%)
	<i>P. falciparum</i> + <i>P. vivax</i>	Aanvaardbaar	1 (0.6%)
Groep III	<i>Plasmodium non-falciparum</i>	Major error*	3 (1.9%)
	<i>P. vivax</i>		2 (1.2%)
	<i>P. malariae</i>		1 (0.6%)
	<i>Babesia</i> sp.		2 (1.2%)
	Afwezigheid van parasieten		3 (1.9%)

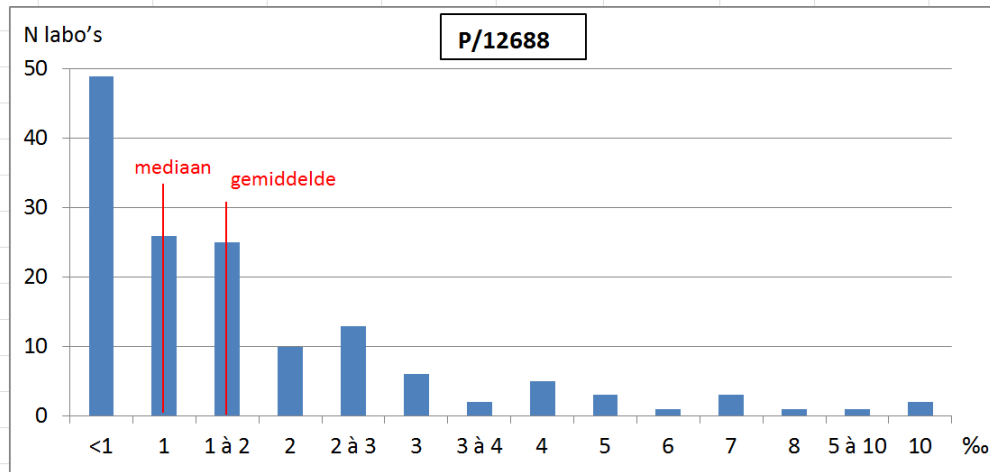
De verdeling van de parasitemie van beide stalen is te zien in Figuur 1 en Figuur 2. Enkel de parasitemie van de trofozoïeten wordt getoond en voor het berekenen van het gemiddelde werd <1‰ gelijkgesteld aan 0.5‰, 1 à 2‰ aan 1.5‰ enz. In het referentielaboratorium (ITG) werd voor beide stalen een parasitemie gerapporteerd van <1 asexuele parasiet/1000 rode bloedcellen (<1‰).

Er is nogal wat spreiding in de parasitemie. De laboratoria die een parasitemie antwoordden die ver boven het gemiddelde en de mediaan ligt, wordt aangeraden hun telling opnieuw te bekijken. Voor een beschrijving van hoe dit kan gebeuren, wordt verwezen naar het rapport van de EKE 2007/3 (blz. 55-56). Een correcte schatting van de parasitemie is vooral van groot belang bij *P. falciparum* want de parasitemie is één van de criteria op basis waarvan besloten wordt de patiënt op te nemen in het ziekenhuis.

Figuur 1. Verdeling van de parasitemie van staal P/12582.



Figuur 2. Verdeling van de parasitemie van staal P/12688.



Van de 161 laboratoria die een antwoord stuurden voor staal P/12582 zouden 3 met een *major* en 19 met een *minor* error het staal niet doorsturen naar het referentielaboratorium. Voor staal P/12688 geldt dit voor 5 van de 161 laboratoria waarvan 4 met een *major* en 1 met een *minor* error. Laboratoria worden aangemoedigd om gebruik te maken van het aanbod van het referentielaboratorium om malariaresultaten te confirmeren. Resultaten van stalen die voor 16u15 in het laboratorium toekomen, worden dezelfde dag bezorgd. PCR gebeurt één keer per week in batch. Idealiter worden een -bij voorkeur- ongekleurde dikke druppel en uitstrijkje, gemaakt van vers bloed, en 1 ml EDTA-bloed opgestuurd.

6.1 Hepatitis B

6.1.1 De Stalen

Er werden 2 stalen rondgestuurd: staal S/4033 was een gelyofiliseerd staal en staal S/5635 was “klaar-voor-gebruik” (vloeibaar staal).

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

“Twee jonge mannen maakten een “avontuurlijke” reis naar Brazilië, waar zij veelvuldige contacten hadden met de lokale bevolking. Twee weken na hun terugkeer melden zij zich bij hun huisarts. Beiden vertonen klinische tekens van geelzucht en het laboratorium-onderzoek vertoont gestoorde levertesten”

Op beide stalen dienden zowel de HBV als HCV serologie uitgevoerd te worden. Voor de interpretatie werd gevraagd de beide parameters (HBV en HCV) samen te beoordelen.

De verwachte resultaten voor HBV waren:

S/4033:

HBV: HBsAg positief
HBsAs negatief
HBcAs positief
HBeAg negatief
HBeAs positief

S/5635:

HBV: HBsAg negatief
HBsAs negatief
HBcAs negatief
(HBeAg negatief)
(HBeAs negatief)

6.1.2. De deelnemers

154 Belgische en Luxemburgse klinische laboratoria hebben de hepatitis B serologie uitgevoerd. 148 (96.1%) onder hen hebben hun resultaat doorgestuurd via elektronische weg (toolkit).

Voor staal S/4033 voerden de 154 laboratoria 677 testen uit die als volgt verdeeld waren:

- HBs Ag:	163 testen
- HBs Ag confirmatie :	11 testen
- anti-HBs As :	152 testen
- anti-HBc Totaale As:	153 testen
- IgM anti-HBc :	7 testen
- HBe Ag:	97 testen
- anti-HBe As :	94 testen

Eén laboratorium voerde 1 test uit, 3 laboratoria 2 testen, 47 laboratoria 3 testen, 7 laboratoria 4 testen, 82 laboratoria 5 testen, 8 laboratoria 6 testen, 5 laboratoria 7 testen en één laboratorium 8 testen.

Voor staal S/5635 voerden de 154 laboratoria 629 testen uit die als volgt verdeeld waren:

- HBs Ag:	157 testen
- HBs Ag confirmatie:	1 test
- anti-HBs As:	152 testen
- anti-HBc Totaale As	152 testen
- IgM anti-HBc:	2 testen
- HBe Ag:	84 testen
- anti-HBe As:	81 testen

2 laboratoria voerden 1 test uit, 1 laboratorium 2 testen, 66 laboratoria 3 testen, 4 laboratoria 4 testen, 78 laboratoria 5 testen, 1 laboratoria 6 testen, 1 laboratorium 7 testen en 1 laboratorium 8 testen.

De combinaties per laboratorium worden in volgende tabel weergegeven.

Tabel 6.1.1 Combinatie van parameters van de hepatitis B serologie

<i>Uitgevoerde parameters</i>		S/4033	S/5635
1 test	Ag HBs	1	2
2 tests	Ag HBs + Ac HBs	1	-
	Ag HBs + Ac HBc	1	1
	Ag HBs + Ag HBs conf.	1	-
3 tests	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc	46	64
	Ag HBs + Ac HBs + IgM HBc	1	2
4 tests	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe	3	3
	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBs conf.	4	1
5 tests	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe	80	78
	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + IgM HBc + Ag HBs conf.	1	-
	2 Ag HBs + Ac HBs + 2 Ac HBc	1	-
6 tests	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe + IgM HBc	2	-
	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe + Ag HBs conf.	1	-
	2 Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe	5	1
7 tests	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe + Ag HBs conf. + IgM HBc	3	-
	2 Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe + Ag HBs conf.	1	-
	2 Ag HBs + Ac HBs + 2 Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe	1	1
8 tests	2 Ag HBs + 2 Ac HBs + 2 Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe	1	1
Totaal		154	154

6.1.3 Gebruikte reagentia

Tabellen 6.1.2. tot en met 6.1.8. geven in aantal weer welke reagentia door de deelnemers gebruikt werden voor de verschillende parameters. Niet alle laboratoria bepaalden alle parameters.

Tabel 6.1.2 Reagentia gebruikt voor de bepaling van HBs Ag

<i>Fabrikant</i>	<i>Reagens</i>	<i>S/4033</i>	<i>S/5635</i>
Abbott	Architect HBsAg Qualitative II	39	39
	Prism HBsAg	1	1
Beckman (verdelers Analis)	Unicel Dxl HBsAg V3	7	7
	Access HBsAg	4	4
bioMérieux	VIDAS HBs Ag Ultra	17	12
	Hepanostika HBsAg ultra	1	-
Diasorin	LIAISON XL Murex HBsAg Quant	9	9
	LIAISON HBsAg	4	4
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products HBsAg	8	8
	Vitros Immunodiagnostic Products HBsAg ES	1	1
Roche	Cobas HBsAg II	32	32
	Modular HBsAg II	11	11
	Elecsys HBsAg II	5	5
	Cobas HBsAg	3	3
	Modular HBsAg	1	1
	Elecsys HBsAg	1	1
Siemens	ADVIA Centaur HBsAg II	14	14
	Immulite HBs Ag	4	4
	Enzygnost HBsAg 6.0	1	1
Totaal		163	157

Tabel 6.1.3 Reagentia gebruikt voor de HBs Ag confirmatie

<i>Fabrikant</i>	<i>Reagens</i>	<i>S/4033</i>	<i>S/5635</i>
Abbott	Architect HBsAg Confirmatory	4	1
Diasorin	LIAISON HBsAg Confirmatory test	1	-
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products HBsAg confirmatory	1	-
Roche	Cobas HBsAg Confirmatory	2	-
	Elecsys HBsAg Confirmatory	1	-
Siemens	ADVIA Centaur HBsAg Confirmatory	1	-
	Enzygnost HBsAg Confirmatory test	1	-
Totaal		11	1

Tabel 6.1.4 Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-HBs As

<i>Fabrikant</i>	<i>Reagens</i>	<i>S/4033</i>	<i>S/5635</i>
Abbott	Architect anti-HBs	39	39
Beckman (verdelers Analis)	Unicel Dxl HBsAb	7	7
	Access HBsAb	4	4
bioMérieux	VIDAS Anti-HBs Totaal II	9	9
Diasorin	LIAISON anti-HBs II	6	6
	LIAISON anti-HBs	4	4
	LIAISON anti-HBs PLUS	2	2
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBs	8	8
Roche	Cobas anti-HBs	35	35
	Modular anti-HBs	12	12
	Elecsys anti-HBs	7	7
Siemens	ADVIA Centaur anti-HBs 2	13	14
	Immolute anti-HBs	5	5
	Enzygnost anti HBs II	1	-
Totaal		152	152

Tabel 6.1.5 Reagentia gebruikt voor de bepaling van Totaale anti-HBc As

<i>Fabrikant</i>	<i>Reagens</i>	<i>S/4033</i>	<i>S/5635</i>
Abbott	Architect anti-HBc II	40	40
Beckman (verdelers Analis)	Unicel Dxl HBcAb	7	7
	Access HBcAb	4	4
bioMérieux	VIDAS anti-HBc Totaal II	14	13
Diasorin	LIAISON anti-HBc	11	11
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBc	9	9
Roche	Cobas anti-HBc	33	33
	Modular anti-HBc	12	12
	Elecsys anti-HBc	6	6
Siemens	ADVIA Centaur HBc Totaal	13	13
	Immolute anti-HBc	4	4
Totaal		153	152

Tabel 6.1.6 Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-HBc IgM

<i>Fabrikant</i>	<i>Reagens</i>	<i>S/4033</i>	<i>S/5635</i>
Abbott	Architect anti-HBc IgM	2	-
bioMérieux	VIDAS HBc IgM II	2	2
Diasorin	LIAISON HBc IgM	1	-
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBc IgM	2	-
Abbott	Architect anti-HBc IgM		
Totaal		7	2

Tabel 6.1.7 Reagentia gebruikt voor de bepaling van HBe Ag

<i>Fabrikant</i>	<i>Reagens</i>	<i>S/4033</i>	<i>S/5635</i>
Abbott	Architect HBeAg	22	16
bioMérieux	VIDAS HBe/Anti HBe	36	31
Diasorin	LIAISON HBeAg	9	8
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products HBeAg	3	3
Roche	Cobas HBeAg	12	11
	Modular HBeAg	3	3
	Elecsys HBeAg	3	3
Siemens	ADVIA Centaur HBeAg	9	9
Totaal		97	84

Tabel 6.1.8 Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-HBe As

<i>Fabrikant</i>	<i>Reagens</i>	<i>S/4033</i>	<i>S/5635</i>
Abbott	Architect anti-HBe	21	15
	AxSYM anti-HBe 2.0	1	1
bioMérieux	VIDAS HBe/Anti HBe	33	28
Diasorin	LIAISON anti-HBe	9	8
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBe	3	3
Roche	Cobas anti-HBe	12	11
	Modular anti-HBe	3	3
	Elecsys anti-HBe	3	3
Siemens	ADVIA Centaur anti-HBe	9	9
Totaal		94	81

6.1.4 Resultaten

Staal S/4033

De resultaten die de laboratoria geantwoord hebben voor de verschillende parameters voor staal S/4033 zijn weergegeven in tabel 6.1.9.

Tabel 6.1.9 Resultaten voor HBV voor staal S/4033

	HBs Ag ¹	HBs Ag conf.	HBs As ²	HBc tot As ¹	HBc IgM	HBe Ag	HBe As
Positief	154	11	-	150	-	1	93
Borderline	-	-	3	-	-	-	-
Negatief	-	-	148	-	7	96	1
Totaal	154	11	151	150	7	97	94

¹ De laboratoria die HBsAg en HBcAs met 2 methoden bepaalden, bekwamen voor al deze parameters positieve resultaten met beide methoden.

² Het laboratorium dat HBsAs met 2 methoden bepaalde, bekwam een negatief resultaat met beide methoden.

Het laboratorium dat positief antwoordde voor Hbe Ag en negatief voor Hbe As heeft wellicht deze beide resultaten verwisseld.

Voor de kits met een voldoende aantal gebruikers (N ≥6) van de parameters waar een beoordeling van het kwantitatief resultaat relevant is, hebben we, voor zover de laboratoria dit kwantitatief resultaat geantwoord hebben, de mediaan, minimum en maximum berekend. Deze resultaten worden weergegeven in tabellen 6.1.10. tot en met 6.1.12.

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

Tabel 6.1.10 Mediaan, minimum en maximum bekomen voor HBsAg voor staal S/4033

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off
Architect HBsAg Qualitative (index s/co)	39	2634.0	2407.9	2893.0	≥ 1.0
Unicel Dxl HbsAg V3 (index s/co)	7	568.8	528.7	653.5	≥ 1.0
VIDAS HBs Ag Ultra (test value)	16	17.17	7.64	21.58	≥ 1.0
LIAISON XL Murex HBsAg Quant (IU/mL)	9	53	42	64	≥ 0.05
Vitros Immunodiagnostic Products HBsAg (index S/co)	8	1955	1820	2090	≥ 0.90
Cobas HBsAg II (index s/co)	32	1687	1487	2000	≥ 1.0
Modular HBsAg II (index s/co)	11	1601	1449	1920	≥ 1.0

Voor ADVIA Centaur antwoorden 13 laboratoria een index >1000 en één laboratorium een index >250

Tabel 6.1.11 Mediaan, minimum en maximum bekomen voor Totaale anti HBc As voor staal S/4033

<i>Kit (eenheid)</i>	<i>N labo's</i>	<i>Mediaan</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Cut-off</i>
Architect anti-HBc II (index s/co) ¹	39	11.80	9.82	15.12	≥ 1.0
Unicel DxI HBc Ab (index s/co)	7	182.00	133.81	228.37	≥ 1.0

¹ Tevens antwoordde één laboratorium een s/co van 1.94

We vermeldden verder ook dat:

- voor VIDAS Anti-HBc Totaal II 13 laboratoria een test value gelijk aan 0 antwoordden,
- voor Liaison anti-HBc 11 laboratoria een index <0.10 antwoordden
- voor Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBc 1 laboratorium een index gelijk aan 0 antwoordde, 7 laboratoria een index 0.01 en 1 laboratorium een index 0.02
- voor Cobas anti-HBc 7 laboratoria een index gelijk aan 0 antwoordden, 1 laboratorium een index 0.0004, 19 laboratoria een index 0.004, 4 laboratoria een index 0.005, 1 laboratorium een index 0.05 en 1 laboratorium een index 250
- voor Elecsys anti-HBc 1 laboratorium een index gelijk aan 0 antwoordde, 4 laboratoria een index 0.004 en 1 laboratorium een index 0.005
- voor Modular anti-HBc 7 laboratoria een index 0.004 antwoordden, 2 laboratoria een index 0.005, 1 laboratorium een index 0.04 en 1 laboratorium een index <0.10
- voor ADVIA Centaur HBc Totaal 13 laboratoria een index >8 antwoordden

Tabel 6.1.12 Mediaan, minimum en maximum bekomen voor HBe As voor staal S/4033

<i>Kit (eenheid)</i>	<i>N labo's</i>	<i>Mediaan</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Cut-off</i>
Architect anti-HBe (index s/co)	21	0.01	0.01	0.03	Stalen met een s/co ≤ 1.0 worden als "reactief" beschouwd
VIDAS HBe/anti-HBe (test value) 1	31	0.01	0.01	0.04	Stalen met een test value <1.0 worden als "positief" beschouwd
Cobas anti-HBe (index s/co)	12	0.004	0.000	0.005	Stalen met een s/co ≤ 1.0 worden als "reactief" beschouwd

¹ Tevens antwoordde één laboratorium een test value van 0.2 en één laboratorium een test value 33

We vermeldden verder ook dat:

- voor LIAISON Anti-HBe 9 laboratoria een index <0.1 antwoordden
- voor ADVIA Centaur Anti-HBe 8 laboratoria een index >4.5 antwoordden en één laboratorium een index >4.0

Een aantal laboratoria vermeldden dat ze een aantal testen niet in routine zouden uitvoeren:

- HBs As (wel Hbs Ag en HBc As): 1 labo
- HBc As (wel Hbs Ag, HBs As, HBe Ag en HBe As): 1 labo
- HBe Ag (wel Hbs Ag, HBs As, HBc As en HBe As): 1 labo
- HBe As (wel Hbs Ag, HBs As, HBc As en HBe Ag): 1 labo
- Hbs Ag conf. (wel Hbs Ag, HBs As, tot. HBc en HBc IgM): 1 labo
- HBe Ag en HBe As (wel Hbs Ag, HBs As en HBc As): 2 labo's
- HBe Ag en HBe As (wel 2 x Hbs Ag, HBs As en HBc As): 1 labo
- 1 HBs Ag en 1 HBc As (wel 2^e HBs Ag en HBc As; HBs As, HBe Ag en HBe As): 1 labo
- 1 HBs Ag, 1 HBsAs, en 1 HBc As (wel 2^e HBs Ag HBs As, en HBc As; HBe Ag en HBe As): 1 labo

Staal S/5635

De resultaten die de laboratoria geantwoord hebben voor de verschillende parameters voor staal S/5635 zijn weergegeven in tabel 6.1.13..

Tabel 6.1.13 Resultaten voor HBV voor staal S/5635

	HBs Ag ¹	HBs Ag conf.	HBs As ¹	HBc tot As ¹	HBc IgM	HBe Ag	HBe As
Positief	-	-	-	1	-	-	2
Borderline	1	-	-	-	-	-	-
Negatief	153	1	151	149	2	84	79
Totaal	154	1	151	150	2	84	81

¹ De laboratoria die HBsAg, HBsAs en HBcAs met 2 methoden bepaalden, bekwamen voor alle parameters negatieve resultaten met beide methoden

Het borderline resultaat voor HBs Ag en positief resultaat voor HBc As werden geantwoord door één laboratorium, dat vermeldde dat het staal troebel bleef na herhaalde centrifugatie. Eén van beide laboratoria dat een positief resultaat bekwam voor HBe As vermoedde een interferentie vanwege de geïsoleerde positiviteit van deze parameter.

Een aantal laboratoria vermeldden dat ze een aantal testen niet in routine zouden uitvoeren:

- Hbs Ag (wel HBs As, HBc As, HBe Ag en HBe As): 2 labo's
- HBs As (wel Hbs Ag en HBc As): 1 labo
- HBs As (wel Hbs Ag, HBc As, HBe Ag en HBe As): 1 labo
- HBc IgM (wel Hbs Ag en HBs As): 1 labo
- Hbe Ag (wel Hbs Ag, HBs As en HBc As): 1 labo
- HBs As en HBc As (wel Hbs Ag): 2 labo's
- HBs As en Hbs Ag conf. (wel Hbs Ag en HBc As): 1 labo
- HBe Ag en HBe As (wel Hbs Ag, HBs As en HBc As): 39 labo's
- HBc As, HBe Ag en HBe As (wel Hbs Ag en HBs As): 1 labo
- HBs As , HBc As, HBe Ag en HBe As (wel Hbs Ag): 1 labo
- 1 HBs Ag en 1 HBc As (wel 2^e HBs Ag en HBc As; HBs As, HBe Ag en HBe As): 1 labo
- 1 HBs Ag, 1 HBsAs, en 1 HBc As (wel 2^e HBs Ag HBs As, en HBc As; HBe Ag en HBe As): 1 labo

6.2 Hepatitis C

6.2.1 De stalen

Zoals reeds vermeld in hoofdstuk 6.1. dienden de HBV en HCV serologie op dezelfde stalen uitgevoerd te worden.

De verwachte resultaten voor HCV waren:

S/4033:

HCV: antistoffen negatief

S/5635:

HCV: antistoffen positief

6.2.2. De deelnemers

150 Belgische en Luxemburgse klinische laboratoria hebben de anti-HCV antistoffen bepaald (vier laboratoria bepaalden inderdaad enkel de HBV-serologie en niet de HCV serologie). 144 (96%) onder hen hebben hun resultaat doorgestuurd via elektronische weg (toolkit).

Een aantal laboratoria voerde meer dan 1 test uit per staal.

Onderstaande tabel geeft het aantal uitgevoerde testen per staal weer.

Tabel 6.2.1 Aantal uitgevoerde bepalingen van Totaale anti-HCV antistoffen per staal

<i>Staal</i>	<i>1 test</i>	<i>2 testen</i>	<i>3 testen</i>	<i>Totaal</i>
S/4033	147	3	-	150
S/5635	138	11	1	150

Er werden dus 153 testen uitgevoerd op staal S/4033 en 163 testen op staal S/5635.

6.2.3 Gebruikte reagentia

Tabel 6.2.2. geeft in aantal weer welke reagentia door de deelnemers gebruikt werden :

Tabel 6.2.2 Reagentia gebruikt voor de bepaling van anti-HCV antistoffen

Fabrikant	Reagens	S/4033	S/5635
Abbott	Architect HCV	41	41
	PRISM HCV	1	1
bioMérieux	Vidas anti-HCV	6	10
BioRad	Access HCV Ab Plus op toestel Unicel Dxl 800 ¹	10	10
	Monolisa HCV Ag-Ab ULTRA Assay	-	1
Diasorin	Liaison XL Murex HCV Ab	8	8
Fujirebio	Innolia HCV score	-	3
Mikrogen (verdelers Euribel)	recomBlot HCV IgG 2.0	1	1
MP Diagnostics	HCV Blot 3.0	-	1
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HCV	11	11
	HCV version 3.0 Elisa	2	2
Roche	Cobas e anti-HCV II	29	29
	Cobas e anti-HCV	12	12
	Modular anti-HCV II	6	6
	Modular anti-HCV	4	4
	Elecsys anti-HCV	3	3
	Elecsys anti-HCV II	1	2
Siemens	ADVIA Centaur HCV	18	18
Totaal		153	163

¹ Dit toestel wordt door de firma Analis Beckman gecommmercialiseerd

6.2.4 Resultaten

Staal S/4033

149 laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor alle gebruikte methoden. Eén laboratorium bekwam een borderline resultaat.

Vier laboratoria vermeldden dat ze één test niet in routine zouden uitvoeren: voor één onder hen is dit de enige bepaling die het laboratorium uitvoert, voor de 3 andere laboratoria één van de 2 testen die ze gebruiken.

Staal S/5635

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat voor alle gebruikte methoden.

Voor de kits met een voldoende aantal gebruikers ($N \geq 6$), hebben we minimum, maximum en mediaan bepaald. Deze gegevens worden weergegeven in tabel 6.2.3. Voor de kit ADVIA Centaur HCV (Siemens) hebben 18 laboratoria het resultaat >11.0 geantwoord.

Tabel 6.2.3 Mediaan, minimum en maximum bekomen voor HCV-antistoffen voor S/5635 voor de meest gebruikte kits (de resultaten worden telkens uitgedrukt in index (eenheid = sample/cut-off, uitgezonderd voor de VIDAS waar de eenheid "Test Value" is)).

<i>Fabrikant</i>	<i>Reagens</i>	<i>Aantal labo's</i>	<i>Mediaan</i>	<i>Maximum</i>	<i>Minimum</i>	<i>Cut-off</i>
Abbott	Architect HCV	41	10.8	9.3	12.1	≥ 1.0
bioMérieux	Vidas anti-HCV	10	21.93	19.40	25.76	≥ 1.0
BioRad	Access HCV Ab Plus op toestel Unicel	10	6.21	5.47	7.79	≥ 1.0
Diasorin	Liaison XL Murex HCV Ab	8	5.2	4.8	6.7	≥ 1.0
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HCV	11	26.9	24.5	30.0	≥ 1.0
Roche	Cobas e anti-HCV	12	189.1	164.5	202.8	≥ 1.0
	Cobas e anti-HCV II	29	182.4	110.2	224.1	≥ 1.0
	Modular anti-HCV II	6	184.8	168.1	208.6	≥ 1.0

Twee laboratoria vermeldden dat ze één test niet in routine zouden uitvoeren: één laboratorium dat 2 testen gebruikte en het laboratorium dat 3 testen gebruikte.

6.3 Interpretaties voor stalen S/4033 en S/5635

Ter gelegenheid van deze enquête werd aan de laboratoria gevraagd om voor elk van beide stalen HBV en HCV samen te interpreteren.

Voor de laboratoria die slechts 1 van beide parameters bepalen, werden aparte antwoordmogelijkheden voorzien.

150 laboratoria voerden de testen voor HBV- en HCV-serologie uit. Vier laboratoria voerden enkel de HBV-serologie uit. Eén van deze 4 leverde geen interpretaties in.

De verwachte interpretaties waren:

S/4033: "Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie" (code 01)

S/5635: "Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken" (code 08)

Staal S/4033

De laboratoria die enkel de HBV-interpretatie antwoordden

De drie laboratoria gaven de interpretatie: "Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus" (code 9).

Alle drie vermeldden eveneens dat een bevestiging wenselijk is door de bepaling complementaire testen (respectievelijk HBc As, HBc IgM en virale lading HBV).

De laboratoria die de HBV- en HCV-interpretatie antwoordden

Eigenlijke interpretatie

Voor staal S/4033 opteerde de meerderheid van de laboratoria voor de interpretatie "Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie" (code 01). Enkele verkozen een andere van de voorgestelde interpretaties. Nog anderen stelden een eigen interpretatie voor.

Een overzicht van de interpretaties wordt in onderstaande tabel 6.3.1. weergegeven

Tabel 6.3.1 Interpretatie voor staal S/4033 (HBV en BCV)

<i>Interpretatie</i>	<i>N labo's</i>
Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie (code 01)	145
Serologisch profiel suggestief voor late acute Hepatitis B of chronische hepatitis B maar geen evidentie voor hepatitis C infectie (uit Harrison's) ¹	1
Serologisch profiel suggestief voor vroeger doorgemaakte Hepatitis B virus infectie, zonder aanmaak van surface antilichamen. Chronische hepatitis B virus infectie, dragerschap. Geen evidentie voor hepatitis C virus infectie. ²	1
Suggestief voor HBV infectie, geen HCV. Normaal zou ik ook HBe Ag nog positief verwachten op dit moment. Normaal zouden jonge Belgische mannen gevaccineerd moeten zijn. ³	1
Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken. (code 02) ⁴	1
Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie (code 01)	1
Totaal	150

¹ Technische resultaten van dit labo: HBs Ag, HBs Ag confirm en HBc As: positief; HBs As, HBc IgM en HCV-As: negatief.

² Technische resultaten van dit labo: HBs Ag, HBc As en HBe As: positief; HBs As, HBe Ag en HCV-As: negatief.

³ Technische resultaten van dit labo: HBs Ag, HBc As en HBe As: positief; HBs As, HBe Ag en HCV-As: negatief.

⁴ Technische resultaten van deze laboratoria: 1) HBs Ag, HBc As en HBe As: positief; HBs As en HBe Ag negatief; HCV-As: borderline 2) HBs Ag en HBc As: positief; HBs As en HCV-As negatief.

Opmerkingen bij de interpretatiecode 1

120 laboratoria gaven bij het verwachte antwoord "Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie" een opmerking.

Tabel 6.3.2. geeft deze opmerkingen weer.

Tabel 6.3.2 Opmerkingen voor staal S/4033 gegeven door de laboratoria die de interpretatie "Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie" gaven

<i>Opmerking</i>	<i>N labo's</i>
Een bevestiging is niet nodig	57
Een bevestiging is gewenst door complementaire test(en)	42
Een bevestiging is gewenst door een nieuwe afname	17
Een bevestiging is gewenst door complementaire test(en) en door een nieuwe afname	2
Een bevestiging is gewenst door complementaire test(en), een nieuwe afname en een gastro-enterologische raadpleging	1
Bevestiging niet nodig maar HBV DNA is nuttig voor eventuele start van antivirale therapie	1
Totaal	120

Twaalf laboratoria hebben gepreciseerd dat zij een 2e staalname zouden aanvragen om de evolutie op te volgen. Enkel onder hen gaven hierbij een verdere precisering:

- Om chroniciteit na te gaan (+ PCR): 1 labo
- Om verschijnen van HBsAs na te gaan: 4 labo's
- Om verdwijnen van HBsAg en verschijnen van HBsAs na te gaan: 4 labo's
- Om verdwijnen van HBsAg en verschijnen van HBsAs na te gaan en de levertesten op te volgen: 1 labo

Bijkomende testen bij interpretatiecode 1

Tabel 6.3.3. geeft weer welke complementaire testen de laboratoria voorstelden.

Tabel 6.3.3 Complementaire testen voorgesteld door de laboratoria die de interpretatie “Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; geen evidentie voor hepatitis C virus infectie” voor staal S/4033 gaven

<i>Test</i>	<i>N labo's</i>
PCR HBV/HBV DNA/virale lading	16
PCR HBV/HBV DNA/virale lading + HBe Ag en HBe As	4
PCR HBV/HBV DNA/virale lading + HBe Ag en HBe As + HBc IgM	1
PCR HBV/HBV DNA/virale lading + HBe Ag + Hepatitis delta serologie	1
PCR HBV/HBV DNA/virale lading + levertesten	1
PCR HBV/HBV DNA/virale lading + HBc IgM ¹	4
PCR HBV/HBV DNA/virale lading + HBs Ag conf.	3
Hbe Ag + Hbe As	5
Hbe Ag + Hbe As + HBc IgM	1
Hbe Ag	1
HBc IgM	1
HBs Ag conf.	7
Totaal	45

¹ Eén van deze laboratoria zou eerst HBc IgM bepalen en slechts als deze positief zijn een moleculair biologische test uitvoeren

Staal S/5635

De laboratoria die enkel de HBV-interpretatie antwoordden

De drie laboratoria gaven de interpretatie “Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus” (code 12).

Twee van deze laboratoria vermeldden dat een bevestiging niet nodig is; het derde gaf geen opmerking.

De laboratoria die de HBV- en HCV-interpretatie antwoordden

Eigenlijke interpretatie

Voor staal S/5635 koos een meerderheid van de laboratoria voor de interpretatie "Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken" (code 08). Enkele verkozen een andere van de voorgestelde interpretaties. Nog anderen stelden een eigen interpretatie voor.

Een overzicht van de interpretaties wordt in onderstaande tabel 6.3.4. weergegeven:

Tabel 6.3.4 Interpretatie voor staal S/5635 (HBV en BCV)

<i>Interpretatie</i>	<i>N labo's</i>
Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken (code 08)	145
Geen infectie noch immuniteit voor hepatitis B. Detectie van HCV doorgestuurd naar referentiecentrum voor bijkomende testen ¹	1
HCV positief, HBV negatief, geen immuniteit tegen hepatitis B ²	1
Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken (code 02). ³	2
Immuniteit ten gevolge van vaccinatie of natuurlijke infectie door het hepatitis B virus; complementaire testen zijn nodig om het onderscheid tussen beide te maken. Serologie compatibel met ofwel een actieve (chronische) HCV-infectie ofwel met een contact met HCV in het verleden; complementaire testen zijn nodig om het onderscheid tussen beide te maken. ⁴	1
Totaal	150

¹ Technische resultaten van dit labo: HBs Ag, HBs As, HBc As, HBe Ag en HBe As: negatief; HCV-As positief.

² Technische resultaten van dit labo: HBs Ag, HBs As en HBc AS: negatief; HCV-As positief.

³ Technische resultaten van deze laboratoria: 1) HBs Ag, HBs As, HBc AS, HBe Ag en HBe As: negatief; HCV-As positief. 2) HBc As en HCV-AS positief; HBsAg borderline, HBsAs, Hbe Ag en Hbe As negatief.

⁴ Dit laboratorium bekwam een negatief resultaat voor HBs Ag en een positief voor de HCV-As.

Opmerkingen bij de interpretatiecode 8

132 laboratoria gaven bij het verwachte antwoord ""Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken" een opmerking.

Tabel 6.3.5. geeft deze opmerkingen weer.

Tabel 6.3.5 Opmerkingen voor staal S/5635 gegeven door de laboratoria die de interpretatie “Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken” gaven.

<i>Opmerking</i>	<i>N labo's</i>
Een bevestiging is gewenst door complementaire test(en)	117
Een bevestiging is gewenst door een nieuwe afname	3
Een bevestiging is niet nodig	12
Totaal	132

Bijkomende testen bij interpretatiecode 8

Tabel 6.3.6. geeft weer welke complementaire testen de laboratoria voorstelden.

Tabel 6.3.6 Complementaire testen voorgesteld door de laboratoria die de interpretatie “Geen evidentie voor hepatitis B virus infectie of immuniteit voor hepatitis B virus; serologie compatibel met ofwel een (chronisch) actieve HCV-infectie of een doorgemaakt contact met HCV in het verleden. Bijkomende onderzoeken zijn aangewezen om het onderscheid te maken” voor staal S/5635 gaven

<i>Test</i>	<i>N labo's</i>
Moleculaire testen voor HCV	86
Moleculaire testen voor HCV + blottesten voor HCV	8
Moleculaire testen voor HCV + blottesten voor HCV + confirmatie HBeAs	1
Moleculaire testen voor HCV + confirmatie HCV-As	3
Moleculaire testen voor HCV + levertesten (transaminasen)	3
Moleculaire testen voor HCV + levertesten (transaminasen) + opvolgen HCV-AS en moleculaire biologie na 3 maanden	1
Moleculaire testen voor HCV; als negatief: confirmatie HCV-As	1
Blottesten voor HCV	4
Confirmatie HCV-As	6
Confirmatie HCV-As; als positief moleculaire testen voor HCV	3
Complementaire testen voor HCV	1
Totaal	117

6.4 Commentaar

De stalen stelden technisch weinig tot geen problemen.

Staal S/4033 was positief voor HBsAg, HBcAs en HBeAs en negatief voor HCV. Vermits het HBsAg positief was voerden de meeste laboratoria ook de analyses HBeAg en/of HBeAs uit of suggereerden ze die analyses bij de uit te voeren testen.

De interpretatie van de meeste laboratoria was correct. Eigen interpretaties die door de laboratoria werden vermeld en suggesties voor een tweede staalafname werden ingegeven door een vermoeden van late, chronische of doorgemaakte infectie door de aanwezigheid van HBeAs en afwezigheid van HBeAg.

Ongeveer de helft van de laboratoria zouden de resultaten bevestigen, veelal door PCR/virale lading. Moleculaire testen worden enkel terugbetaald in welbepaalde situaties.

Bij staal S/5635 betrof het een patiënt zonder evidentie voor een hepatitis B virus infectie of immuniteit voor het hepatitis B virus maar met een positieve HCV-serologie.

Opmerkelijk is dat twee laboratoria vermeldden dat ze in routine geen HbsAg zouden uitvoeren hoewel het om een patiënt ging met risicogedrag en recente klachten.

Enkele vreemde interpretaties van de HBV-serologie waren:

- Serologisch profiel suggestief voor een infectie met het hepatitis B virus hoewel HBsAg, HBsAs, HBcAs, HBeAg en HBeAs negatief waren.
- Immuniteit ten gevolge van vaccinatie of natuurlijke infectie door het hepatitis B virus hoewel enkel HBsAg bepaald werd.

Als bijkomende testen voor HCV werden door de laboratoria blottesten aangeraden die het serologisch resultaat kunnen bevestigen en/of levertesten en moleculaire testen die een idee geven over de activiteit van de ziekte. De verschillende antwoorden weerspiegelen wellicht de strategie die in de verschillende laboratoria gebruikt wordt. Wanneer toch moleculaire testen volgen, is de blottest als confirmatie vaak overbodig. Hetzelfde geldt voor resultaten van de HCV-screeningstest boven een bepaalde waarde wanneer bij validatie van de test is gebleken dat dergelijke sterk positieve waarden altijd bevestigd worden. Ook voor HCV geldt dat moleculaire testen enkel terugbetaald worden in welbepaalde situaties.

6.5 Legionella antigen

De monsters

Er werden 2 urinestalen (Ag/12900 en Ag/12973) rondgestuurd waarop de bepaling van het Legionella-antigen gevraagd werd. Staal Ag/12900 was negatief en staal Ag/12973 was positief. Staal Ag/12973 werd reeds verstuurd in de EKE 2010/2 onder staalnummer Ag/10118.

De deelnemers

In het totaal hebben 90 laboratoria deelgenomen aan deze EKE. 78 (86.7%) onder hen hebben hun resultaat doorgestuurd via elektronische weg (toolkit).

89 laboratoria voerden 1 test uit en 1 laboratorium 2 testen.

Gebruikte reagentia

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

Tabel 6.5.2 Reagentia gebruikt voor de bepaling van het Legionella antigen.

<i>Fabrikant</i>	<i>Reagens</i>	<i>Ag/12900</i>	<i>Ag/12973</i>
Alere Health	Binax Now Legionella Urinary Ag test	81	81
Biorad	Legionella Urine Antigen EIA	1	1
Coris Bioconcept (verdelers International Medical)	Legionella V-test	2	2
IVD Research Inc. (verdelers Herman Diagnostics)	Legionella Urinary Antigen Lateral Flow	2	2
Meridian	Tru Legionella	3	3
	SAS Legionella	1	1
Oxoïd	Xpect Legionella Test	1	1
Totaal		91	91

Resultaten

Staal Ag/12900

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

De antwoorden voor de klinische interpretatie worden weergegeven in tabel 6.4.2.

Tabel 6.5.2 Klinische interpretaties voor staal Ag/12900 (Legionella antigen).

<i>Interpretatie</i>	<i>N labo's</i>
Negatief	77
Bijkomende testen zijn vereist	12
Positief ¹	1
Totaal	90

¹ Dit betreft wellicht het aanvinken van het verkeerde vakje in de toolkit aangezien dit laboratorium "negatief" antwoordde voor het "technische" resultaat.

De bijkomende testen die de laboratoria vermeldden, worden weergegeven in tabel 6.5.3.

Tabel 6.5.3 Bijkomende testen voor staal Ag/12900 (Legionella antigen)

<i>Bijkomende testen</i>	<i>N labo's</i>
PCR	4
PCR + cultuur op respiratoir staal ¹	3
Cultuur op respiratoir staal ²	2
PCR + RX thorax	1
Niet vermeld welke bijkomende test	2
Totaal	12

¹ Eén laboratorium vermeldde dat deze test enkel serogroep 1 (de meest frequente) detecteert en dat in geval van vermoeden van Legionella-infectie cultuur en PCR (voor andere serogroepen) vereist zijn.

² Beide laboratoria vermeldden dat deze test enkel serogroep 1 (de meest frequente) detecteert en dat in geval van vermoeden van Legionella-infectie cultuur vereist is.

Enkele laboratoria die de interpretatie "negatief" gaven, gaven wel een opmerking in het "vrije tekst" veld:

- 1 laboratorium vermeldde dat cultuur en PCR aangewezen zijn gezien het immuno-depressieve statuut van de patiënt
- 1 laboratorium vermeldde dat cultuur aangewezen is bij twijfel
- 2 laboratoria vermeldden dat gezien de test in een vroeg stadium negatief kan zijn, het nuttig kan zijn hem te herhalen (volgens 1 van beide na 3 dagen)
- 2 laboratoria vermeldden dat de test enkel serogroep 1 detecteert

Eén laboratorium vermeldde de test in routine niet uit te voeren op dit staal.

Straal Ag/12973

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

De antwoorden voor de klinische interpretatie worden weergegeven in tabel 6.4.4.

Tabel 6.5.4 Klinische interpretaties voor staal Ag/12973 (Legionella antigen)

<i>Interpretatie</i>	<i>N labo's</i>
Positief	83
Bijkomende testen zijn vereist	7
<i>Totaal</i>	90

De bijkomende testen die de laboratoria vermeldden, worden weergegeven in tabel 6.5.5.

Tabel 6.5.5 Bijkomende testen voor staal Ag/12973 (Legionella antigen).

<i>Bijkomende testen</i>	<i>N labo's</i>
PCR	2
PCR + cultuur op respiratoir staal	2
Cultuur op respiratoir staal	1
Controle op nieuw staal. PCR en cultuur	1
PCR + Influenza A en B Antigen + RX thorax	1
<i>Totaal</i>	7

Drie laboratoria vermeldden de test in routine niet uit te voeren op dit staal; twee onder hen gaven hiervoor een verklaring: 1) Met deze klinische inlichtingen geen sterke verdenking en dus niet routinematig als eerste diagnostiek uitgevoerd, behalve wanneer bv bijkomend ook diarree en hyponatriemie of pneumonie zonder duidelijk agens of in geval van epidemische setting,... 2) Gezien het gebrek aan specificiteit volstaat deze test op zich niet om een Legionella-infectie te diagnosticeren.

Commentaar

Legionellose uit zich klassiek onder de vorm van twee te onderscheiden klinische entiteiten: 1) Legionairsziekte of veteranenziekte, een uitgesproken pneumonie al dan niet met ernstige multisysteem aantasting, en 2) Pontiac koorts, een zelf-limiterende influenza-like illness (ILI). Daarnaast zullen vele personen voorheen geïnfecteerd met *Legionella* bewezen door aantoonbare seroconversie, volstrekt asymptomatisch blijven. De incubatietijd van legionellose bedraagt 2 tot 10 dagen.

Legionairsziekte is vaak ingesloten in de differentiaal diagnostiek van "Atypische" pneumonie naast infecties veroorzaakt door *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*, *Coxiella burnetii* en een grote variëteit virussen. Een klinische overeenkomst igv pneumonie tengevolge van deze pathogenen includeert een niet-productieve hoest en dus afwezigheid van purulent sputum. Nochtans zijn de klinische manifestaties igv veteranenziekte gewoonlijk ernstiger dan die van de meeste atypische pneumonieën. Ook de medische beeldvorming laat absoluut niet toe om veteranenziekte te onderscheiden van pneumonie tgv alternatieve etiologie. Verschillende aspecifieke biochemische abnormaliteiten die men kan waarnemen igv *Legionella* pneumonie zijn hyponatriemie, thrombocytopenie, hematurie, hypofosfatemie, en abnormale leverfunctie-enzymes. Bijkomende adequate laboratoriumdiagnostiek is cruciaal en deze vereist specifieke microbiologische testen.

De diagnostiek van een *Legionella* infectie kan gebeuren door middel van cultuur of PCR van (bij voorkeur diep-) respiratoire stalen, van een urinaire antigendetectietest of van detectie van specifieke *Legionella pneumophila* antistoffen.

Wat betreft de diagnostiek op respiratoire monsters dient men er rekening mee te houden dat het vaak gaat om een weinig of niet productieve hoest (zonder neutrofielen overwicht), zodat soms een broncho-alveloaire lavage dient uitgevoerd voor adequate monsternamen. Dankzij de invoer en het gebruik van de urinaire antigendetectietesten werd de snelheid van diagnostiek en opstarten van antimicrobiële behandeling significant verbeterd, wat op zich resulteerde in een verminderde mortaliteit (Ref. Mykietiuik A et al.) Het betreft erg eenvoudige en toegankelijke testen voornamelijk enzyme immuno-assays (enzyme-linked immunosorbent assays en immunochromatografische testen), geschikt voor het opsporen van *L. pneumophila* serogroep 1 met een aanvaardbare tot erg goede specificiteit. De gevoeligheden variëren enorm van test tot test, en een aantal commerciële testen vertonen een absoluut onaanvaardbaar lage gevoeligheid zelfs voor de detectie van serogroep 1 (Ref. Diederens BMW & Peeters MF; Olsen CW et al.). Serologie is een erg trage detectiemethode: een IgG-seroconversie voor *L. pneumophila* kan pas verwacht worden 6 à 8 weken post-infectie. Deze methode is dus hoofdzakelijk van nut voor epidemiologisch onderzoek, en brengt weinig bij in het kader van individuele diagnostische oppuntstelling.

Gevallen van veteranenziekte kunnen sporadisch voorkomen of als deel van een uitbraak. Sporadische gevallen worden heel het jaar rond gerapporteerd, maar de meeste gevallen van epidemische infecties verschijnen in de zomer en herfst, vermoedelijk omwille van het warmere weer dat de proliferatie van de bacteria in water stimuleert. In gematigde klimaten zijn een aanzienlijk aantal gevallen reis-gerelateerd. De ziekte treedt voornamelijk op bij middelbare of oudere leeftijdsgroepen, bij patiënten met gedaald respiratoir of cardiaal functioneren, bij zware rokers en patiënten met immuun-depressie o.w.v. onderliggende ziekte of medicatie. In een recente studie werden een aantal onafhankelijke risicofactoren aangetoond voor het oplopen van veteranenziekte: diabetes mellitus, huidig

tabaksgebruik, rondreizen, professioneel chauffeur zijn, en één nacht of langer buitenshuis verblijven in eigen land (Ref. Den Boer JW et al).

L. pneumophila serogroep 1 veroorzaakte de Philadelphia uitbraak in 1976 (34 van de 221 gevallen liepen fataal af) en is het causale agens van bij benadering 90% van alle gevallen van veteranenziekte in de Westerse wereld waarbij een bacteriële stam werd geïsoleerd. Tot op heden zijn er 16 *L. pneumophila* serogroepen beschreven. Hoe dan ook, hoewel *L. pneumophila* serogroep 1 de meerderheid van de Amerikaanse en Europese Legionella isolaten vertegenwoordigt, is deze serogroep maar betrokken in ongeveer 50% van de gevallen van community-acquired legionellose in Australië en Nieuw-Zeeland, terwijl het in ongeveer 30% van de gevallen *L. longbeachae* betreft. In Japan is *L. pneumophila* serogroep 1 in ca. 80% van de legionellose gevallen betrokken, gevolgd door serogroep 5, 3 en 2.

Legionella spp. zijn wereldwijd voorkomend. De organismen zijn in staat om zeer lange tijd te overleven in vochtige omgeving en ze kunnen temperaturen verdragen van 0 tot 68°C, en pH-ranges van 5.0 tot 8.5. Ze zijn tevens resistent tegen chlorinering en aldus kunnen ze waterreservoirs binnendringen en prolifereren in thermische habitat inclusief airconditioning koelinstallaties, douchekoppen, whirlpool installaties en respiratoire ventilatoren. Legionella species worden gevonden in biofilms op de oppervlakten van deze systemen, waar ze veel minder gevoelig zijn voor de effecten van biociden en chloor.

De resultaten van de EKE waren technisch in orde.

Staal Ag/12900

Voor staal Ag/12900 waren alle resultaten technisch correct. Bijkomend kunnen we opmerken dat 12 laboratoria bijkomende testen aanraden. Het is inderdaad zo dat de verschillende Legionella Antigen testen die op de markt zijn een variabele gevoeligheid hebben (grote variatie in sensitiviteit ifv gebruikte antigenetest, gaande van 30-92%, ref. JCM Diederik BMW) en die gevoeligheid wordt eveneens beïnvloed in functie van het ziektebeeld, de onderliggende immuunstatus, de probabilmiteit voor deze infectie, ... De gevoeligheid is dus toch wel een beperkende factor, en deze sneltesten kunnen zeker wel gebruikt worden om een Legionella infectie te diagnosticeren, maar niet om een infectie met zekerheid uit te sluiten. Bovendien wordt in hoofdzaak *Legionella pneumophila* serogroep 1 gedetecteerd, hoewel sommige commerciële firma's tevens beweren dat andere serogroepen adequaat worden opgespoord. Wetenschappelijke evidentie hiervoor is actueel ontoereikend.

Het zal dus afhankelijk zijn van de klinische ernst van infectie, de onderliggende immuniteit van de patiënt, de waarschijnlijkheid op deze infectie (brede respiratoire screening op alternatieve infectieuze agentia, recent verblijf in wellness-centrum/kuuroord,...) of er in geval van een negatief antigenetest resultaat een bijkomende meer gevoelige test noodzakelijk is.

Onze klinische casus bezat meerdere risicofactoren en verhoogde vatbaarheid (hoge leeftijd, COPD patiënt, corticoïdengebruik, recent verblijf in kuuroord) voor Legionella-infectie.

8 van de 12 labo's die bijkomende testen aangeraden hebben verwezen naar PCR-analyse, al dan niet in combinatie met kweek/Rx thorax. Een PCR –analyse op een diep respiratoir staal is erg gevoelig en tegelijk erg specifiek, maar laat niet standaard genotypering toe (en heeft geen nomenclatuurnummer), dus voor epidemiologische surveillance is een kweek van groter nut, al vereist deze laatste speciale voedingsbodems en meer geduld (meerdere dagen incubatie) tov PCR. De verwijzing naar een Rx thorax levert in deze setting absoluut geen bijdrage betreffende causaliteit, gezien dit een totaal aspecifiek onderzoek is. Tal van respiratoire pathogenen geven exact vergelijkbare longafwijkingen.

Twee laboratoria raadden enkel kweek aan “voor detectie van andere serogroepen”, maar zelfs voor serogroep 1 is de kweek dus bijkomend van nut gezien meer gevoelig dan de antigenetest.

De vrije commentaar was correct, waarbij slecht 2 laboratoria verwezen naar de detectie van enkel serogroep 1. Reeds in de commentaar betreffende Legionella antigenetest (EKE WIV 2010) vermeldde An Boel duidelijk de Isenberg omschrijving, die de vermelding “*L. pneumophila* serogroep 1” aanmoedigt. Ondanks deze opmerking met betrekking tot de commentaar zien we nog geen brede toepassing hiervan op het terrein.

Standaard rapportering van de resultaten van een urinaire Legionella detectietest gebeurt idealiter als volgt:

“Positief voor urinair antigen van *Legionella pneumophila* serogroep 1”

OF:

“Negatief voor urinair antigen van *Legionella pneumophila* serogroep 1. Andere serogroepen en species van Legionella worden met deze test niet adequaat opgespoord. Bijkomend onderzoek van respiratoire secreties is aangewezen indien klinische verdenking op infectie met *Legionella*.”

Staal Aq/12973

Technisch zijn hier opnieuw weinig tot geen problemen op te merken. 89/90 laboratoria antwoordden “positief”, en één labo “borderline”. Wat betreft “borderline” resultaat: er dient vermeld te worden dat de bijsluiter van BinaxNOW kit duidelijk weergeeft dat elke zichtbare lijn als “positief” dient beschouwd te worden, en dus borderline antwoorden lijkt niet aan de orde.

Van de 90 laboratoria waren er 83 die positief zouden antwoorden zonder meer, en 7 zouden bijkomende testen aanvragen. Hiervan vermeldden 6/7 PCR-test en 4/7 bacteriële kweek. Eén laboratorium verwees niet enkel naar PCR-analyse, maar tevens naar influenza antigenetest en Rx thorax. Bij een beeld van ILI kan natuurlijk influenza een belangrijk causaal agens zijn, naast tal van andere micro-organismen, dus specifiek influenza vermelden is opmerkelijk en ontoereikend. Vermoedelijk wordt er verwezen naar een Rx thorax om objectief te evalueren of de klinische bovenste luchtweginfectie toch niet geassocieerd is aan een beginnende pneumonie, maar bij koorts en influenza-like illness lijkt een Rx thorax standaard niet in alle gevallen noodzakelijk.

M. Reynders, AZ St-Jan, Brugge

Referenties

3. Mykietiuk A et al. *Clinical Infectious Diseases*.2005; 40:794-9.
4. Diederer BMW, Peeters MF. *J Clin Microbiol*.2006;44(8): 2991-3.
5. Olsen CW et al. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*.2009;28:817-20.
6. Harrison TG et al. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*.2009 ;28(7) :781-91.
7. Amemura-Maekawa J et al. *J Med Microbiol*.2010 Jun ;59 :653-9.
8. Phin N et al. *Lancet Infect Dis*.2014 Oct ;14(10) :1011-21.
9. Carratala J, Garcia-Vidal C. *Curr Opin Infect Dis*.2010 Apr ;23(2) :152-7.
10. Diederer BMW. *J Infection*.2008 ;56(1):1-12. Review : Legionella spp. and Legionnaires' disease.

EINDE

© Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid, Brussel 2015.
Dit rapport mag niet gereproduceerd, gepubliceerd of verdeeld worden zonder akkoord van het WIV.