

**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 2017/1**

Microbiologie

Streptococcus anginosus
Staphylococcus lugdunensis
Pseudomonas aeruginosa
Neisseria meningitidis

Parasitologie

Negatief
Plasmodium ovale

Serologie

Rubella-serologie
Legionella-Ag

WIV/Micro/Sero/Para/109

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	
<u>Experten:</u>		
Dr. BERTH Mario	TEL: 03/30.30.809 e-mail: mario.berth@aml-lab.be	FAX: 03/30.30.882
Apr. BOEL An	TEL: 053/72.47.85 e-mail: an.boel@olvz-aalst.be	FAX: 053/72.45.88
Dr. BOELENS Jerina	TEL: 093/32.19.69 e-mail: jerina.boelens@uzgent.be	FAX: 093/32.36.40
Dr. BOERAS Anca	TEL: 042/24.83.58 e-mail: anca.boeras@chc.be	FAX: 042/24.84.73
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. DELFORGE Marie-Luce	TEL: 02/555.34.53 e-mail: marie-luce.delforge@erasme.ulb.ac.be	FAX: 02/555.64.59
Dr. MAGERMAN Koen	TEL: 011/30.97.40 e-mail: koen.magerman@jessazh.be	FAX: 011/30.97.50
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. SAEGEMAN Veroniek	TEL: 016/34.24.23 e-mail: veroniek.saegeman@uzleuven.be	FAX: 016/34.70.10
Dr. VAN ACKER Jos	TEL: 09/224.64.45 e-mail: jos.vanacker@azstlucas.be	FAX: 09/224.64.46
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
Apr. VIJGEN Sara	TEL: 011/33.82.22 e-mail: sara.vijgen@jessazh.be	FAX: 011/33.82.08
Dr. WOESTYN Sophie	TEL: 056/85.58.85 e-mail: sophie.woestyn@skynet.be	FAX: 056/85.58.86

Expertenvergadering: 13/04/2017

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 14/08/2017

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Kris Vernelen', is centered below the text. The signature is written in a cursive style with a long horizontal stroke extending to the right.

Inhoudstafel

Inhoudstafel	4
I. Algemene bemerkingen.....	5
II. Identificaties	6
2.1 Cultuur M//6687 <i>Streptococcus anginosus</i>	6
2.2 Cultuur M/14218 <i>Staphylococcus lugdunensis</i>	7
2.3 Cultuur M/14592 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
2.4 Cultuur M/14654 <i>Neisseria meningitidis</i>	16
III. Resultaten van de identificaties.....	19
3.1. M/6687 Niet pathogenen (<i>Streptococcus anginosus</i> groep) (keelwisser)	19
3.2. Cultuur M/14218 <i>Staphylococcus lugdunensis</i> (etter diabetische voet).....	21
3.3. Cultuur M/14592 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (hemocultuur)	22
3.4. Cultuur M/14654 <i>Neisseria meningitidis</i> (broncho-alveolaire lavage)	23
IV. Antibioqram.....	24
4.1. Cultuur M/142181 <i>Streptococcus lugdunensis</i>	24
4.2. Cultuur M/14592 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31
V. Parasitologie	38
5.1 De monsters	38
5.2 Resultaten voor staal P/14250	39
5.3 Resultaat voor staal P/14630	40
5.4. Commentaar op de enquête	43
VI. Serologie.....	45
6.1 Rubella	45
6.2 Legionela antigen	53

I. Algemene bemerkingen

Voor de 1^e evaluatie van het jaar 2017 (enquête 2017/1) werd volgend materiaal verzonden op 16 januari 2017.

1.1. 3 gelyofiliseerde monsters en 1 klinisch monster 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 **Rubella** en 2 **urinstalen** voor de bepaling van het **Legionella-Ag**.

AANTAL DEELNEMERS

Het aantal evalueerbare antwoordbulletins bedroeg:

- | | |
|---------------------------------------|-----|
| 1. Voor identificatie en antibiogram: | 145 |
| 2. Voor parasitologie: | 160 |
| 3. Voor de serologie: | |
| Rubella: | 134 |
| Legionella-Ag: | 104 |

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

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"

2.1 Cultuur M//6687 *Streptococcus anginosus*

Het staal was een keelwisser die afgenomen werd in het kader van een klassieke keelontsteking zonder verwickelingen bij een kind van 3 jaar. Ter herinnering : het merendeel van dit soort keelontstekingen worden veroorzaakt door virussen. Bacteriële keelontstekingen vormen slechts 15% van de infectieuze keelontstekingen.

Het enige aanvaardbare antwoord op de EKE was “afwezigheid van pathogenen”. De rondgestuurde stam was een *Streptococcus anginosus* die in geen enkel geval als pathogeen kan beschouwd worden in de casus die in de klinische inlichtingen vermeld werd. De streptokokken van de milleri groep zijn inderdaad commensalen van de orofarynx en het is incorrect deze als oorzaak van een banale keelontsteking te beschouwen

De meerderheid van de laboratoria (91%) hebben “afwezigheid van pathogenen” geantwoord. Desalniettemin hebben 9% van de laboratoria de aanwezigheid van een pathogene streptokok vermeld, hetgeen niet aanvaardbaar is in afwezigheid van abscessen of necrotische letsels.

Y. De Gheldre, CHIREC

2.2 Cultuur M/14218 Staphylococcus lugdunensis

De eerste rondzending van het jaar 2017 bevatte een *Staphylococcus lugdunensis* komende uit een diabetische voetwonde.

Quasi elk laboratorium heeft een correcte identificatie ingestuurd. Wat opvallend was aan deze *Staphylococcus lugdunensis* was de aanwezigheid van het MecA gen waardoor de kiem methicilline resistentie heeft verworven. Ook hiervoor scoorden de labo's 90% goed: 128 van de 141 herkenden de methicilline resistentie ondanks het feit dat dit bij deze kiem niet zo voor de hand liggend was.

Zowel EUCAST als CLSI onderstrepen dat de detectie van methicilline resistentie bij stafylokokken klinisch zeer belangrijk is en geven dan ook uitgebreide richtlijnen en commentaren bij het opsporen van deze resistentie.

In de laatste updates hanteren beide comités vrij vergelijkbare regels die toch echter ook telkens complexer worden en in details van elkaar afwijken, *S. epidermidis*, (zie ook het commentaar van O. Denis betreffende stam M/14193 in het rapport van de EKE 2016/3):

EUCAST maakt onderscheid tussen *S. epidermidis* (met een aparte opmerking voor *S. pseudintermedius*) enerzijds en *S. aureus* + alle coagulase negatieve stafylokokken (CNS) -met uitzondering van *S. epidermidis* - anderzijds. Zij raden specifiek aan om voor tweede groep (met *S. aureus* en *S. lugdunensis* dus) cefoxitine te gebruiken als screening voor methicilline resistentie zowel in de diskdiffusie methode als in de microdilutiemethode. Ze vermelden uitdrukkelijk om -althans in de disk diffusie methode- geen gebruik te maken van oxacilline schijfjes. Voor de *S. epidermidis* wordt opgemerkt dat cefoxitine in microdilutie meer problemen oplevert dan in disk diffusie !

CLSI maakt onderscheid tussen *S. aureus* + *S. lugdunensis* enerzijds en alle CNS (met uitzondering van *S. lugdunensis* en een opmerking rond *S. pseudintermedius*) anderzijds. Ook zij vermelden dat cefoxitine een betere surrogaat marker is voor methicilline resistentie en dat oxacilline beter niet gebruikt wordt in disk diffusie.

Opvallend bij beide comités is dat de breakpoints heel nipt zijn afgesteld : Voor *S. lugdunensis* betekent dit dat in microdilutie een cefoxitine van $\leq 4 \mu\text{g/mL}$ als gevoelig mag doorgegeven worden, $>4 \mu\text{g/mL}$ is resistent.

Moeilijk wordt het in diskdiffusie daar zijn de breakpoints voor cefoxitine (30 μg) zowel bij EUCAST als CLSI: $<22\text{mm} = \text{R}$, $\geq 22\text{mm} = \text{S}$.

Dit is in de dagdagelijkse praktijk een "niet-buikbare" regel. Als het aflezen tot op 1mm nauwkeurig een verandering in categorie betekent (met mogelijk "very major error als gevolg) dan zal bijgevolg elke interprofessionele toetsing onmogelijk te valideren zijn.

Om dit te vermijden moet in elk labo dat de disk diffusie gebruikt naar een pragmatische oplossing worden gezocht. Een suggestie waar in verschillende labo's al mee wordt gewerkt, is om toch een "intermediaire categorie" in te voeren. Daarbij kan de $<22\text{mm}$ interpretatie voor resistent behouden blijven maar wordt er een "intermediaire" categorie ingevoerd: Indien het resultaat van de aflezing tussen 22 en 25mm valt wordt een confirmatietest uitgevoerd: MIC oxa bepaling, detectie van MecA /MecC gen, opsporen van PBP2a (antigen test).

Een aflezing van ≥ 26 mm kan betrouwbaar als S worden doorgegeven. Rationalia:
EUCAST wild type distribution of staphylococci for ceftazidime
<https://mic.eucast.org/Eucast2/SearchController/search.jsp?action=performSearch&BeginIndex=0&Micdif=dif&NumberIndex=50&Antib=185&Specium=-1>

H. De Beenhouwer, OLV Aalst

2.3 Cultuur M/14592 *Pseudomonas aeruginosa*

Wanneer we de resultaten van 2009/3 voor de gevoeligheidsbepaling van deze *P. aeruginosa* stam vergelijken met deze van de huidige ronde 2017/1, komen we tot de volgende verschillen (over alle methodes heen):

Antibioticum	Verwachte resultaat	%S (N S/N SIR) 2009/3	%S (N S/N SIR) 2017/1
Piperacilline-tazobactam	S	92 (145/157)	53 (69/131)
ceftazidime	S	99 (170/171)	75 (106/141)
meropenem	S	100 (157/157)	99 (136/137)
amikacine	S	100 (170/170)	99 (126/127)
gentamicine	S	99 (155/156)	100 (126/126)
tobramycine	S	100 (116/116)	100 (71/71)
ciprofloxacine	S	100 (139/139)	100 (117/117)
levofloxacine	S	100 (15/15)	70 (14/20)

Voor piperacilline-tazobactam, ceftazidime en levofloxacine wordt in de huidige ronde 2017/1 minder gevoeligheid gerapporteerd voor deze stam. Dit kan verklaard worden door een combinatie van factoren:

- Het feit dat de meest vermelde MIC waarden van de stam rond de breekpuntcriteria ligt voor deze antibiotica
- Het overstappen van vele laboratoria (+60%) van CLSI naar EUCAST criteria met voor piperacilline-tazobactam, ceftazidime en levofloxacine strengere waarden (sneller resistentie) bij EUCAST. Een evolutie van de EUCAST criteria over de jaren heen is voornamelijk te merken voor zone diameters van piperacilline-tazobactam.

We stellen belangrijke verschillen vast bij **piperacilline-tazobactam**. EUCAST en CLSI schrijven verschillende antibiotische ladingen voor. Zo is met EUCAST de mediane diameter van de papieren piperacilline-tazobactam schijfjes 18-19 mm en van de Neosensitabs 18 mm. Deze waarde ligt rond de interpretatie cutoff (≥ 18), waardoor categorische fouten kunnen verwacht worden. CLSI hanteert een andere antibiotische lading (100+10 μ g), bij de CLSI gebruikers zien we hogere mediane diameters (22, 23 en 24 mm) die duidelijker in de gevoelige range ligt (≥ 21 mm).

Bij de automaten stellen we vast dat het de vitek gebruikers zijn die voornamelijk intermediaire gevoeligheid en resistentie rapporteerden aan piperacilline-tazobactam voor deze stam. Let wel dat 11 laboratoria het geïnterpreteerde resultaat aanpasten naar I of R op basis van het vitek expertsysteem. Gezien bijna even veel vitek gebruikers CLSI (N=31) of EUCAST (N=36) richtlijnen volgen, toont dit andermaal de problematiek aan met het antibioticum piperacilline-tazobactam.

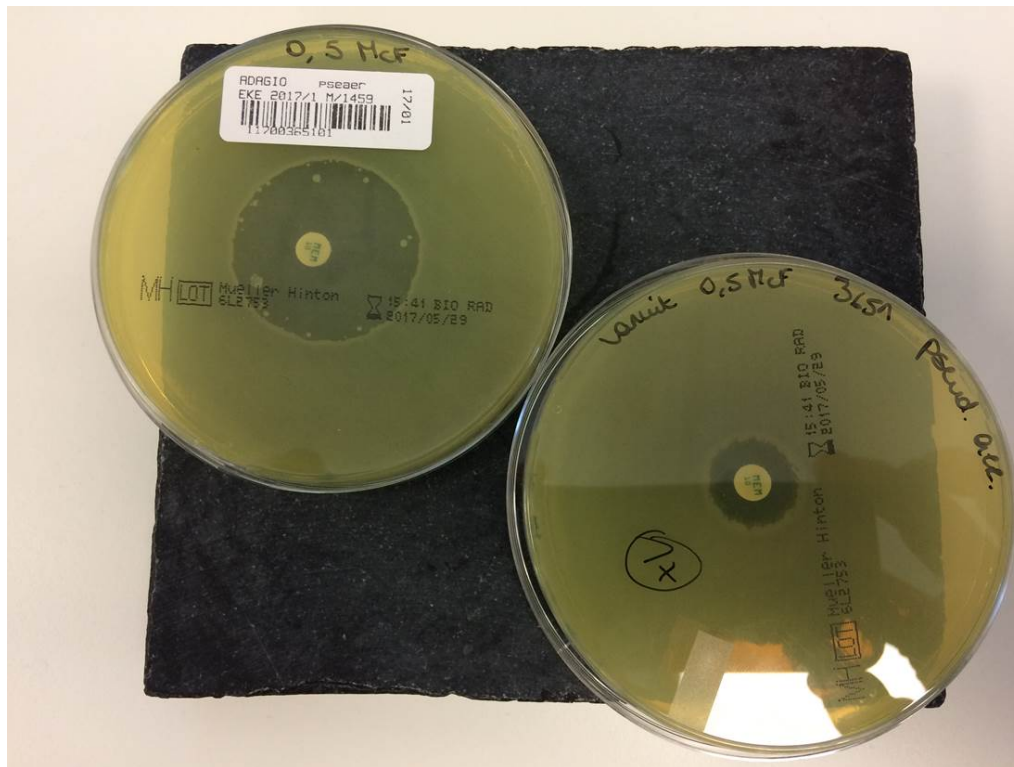
Zoals Desmet et al eerder rapporteerden zijn major errors inderdaad vaker terug te vinden tussen verschillende AST systemen bij nonfermenters voor piperacilline-tazobactam.¹

Voor **ceftazidime** betreft het een mineure verschuiving naar de intermediaire categorie van gevoeligheid tov de resultaten bekomen voor deze stam in ronde 2009/3. We merken dat dit zich voornamelijk bij de vitek gebruikers voordoet.

De verschuiving bij **levofloxacin** kan geheel worden toegeschreven aan de verschuiving van CLSI naar EUCAST gebruik. Zoals bij ceftazidime betreft het een mineure verschuiving naar de intermediaire categorie van gevoeligheid vergeleken met de resultaten van ronde 2009/3 voor deze stam. Intermediaire gevoeligheid werd gerapporteerd zowel bij schijfjes gebruikers, vitek en Phoenix.

Enkele deelnemers stelden vast dat er bij disk diffusie ingroei was in de zone van meropenem (cfr foto).

Dit fenomeen van heteroresistentie is gekend bij meerdere species, waaronder *P. aeruginosa*.



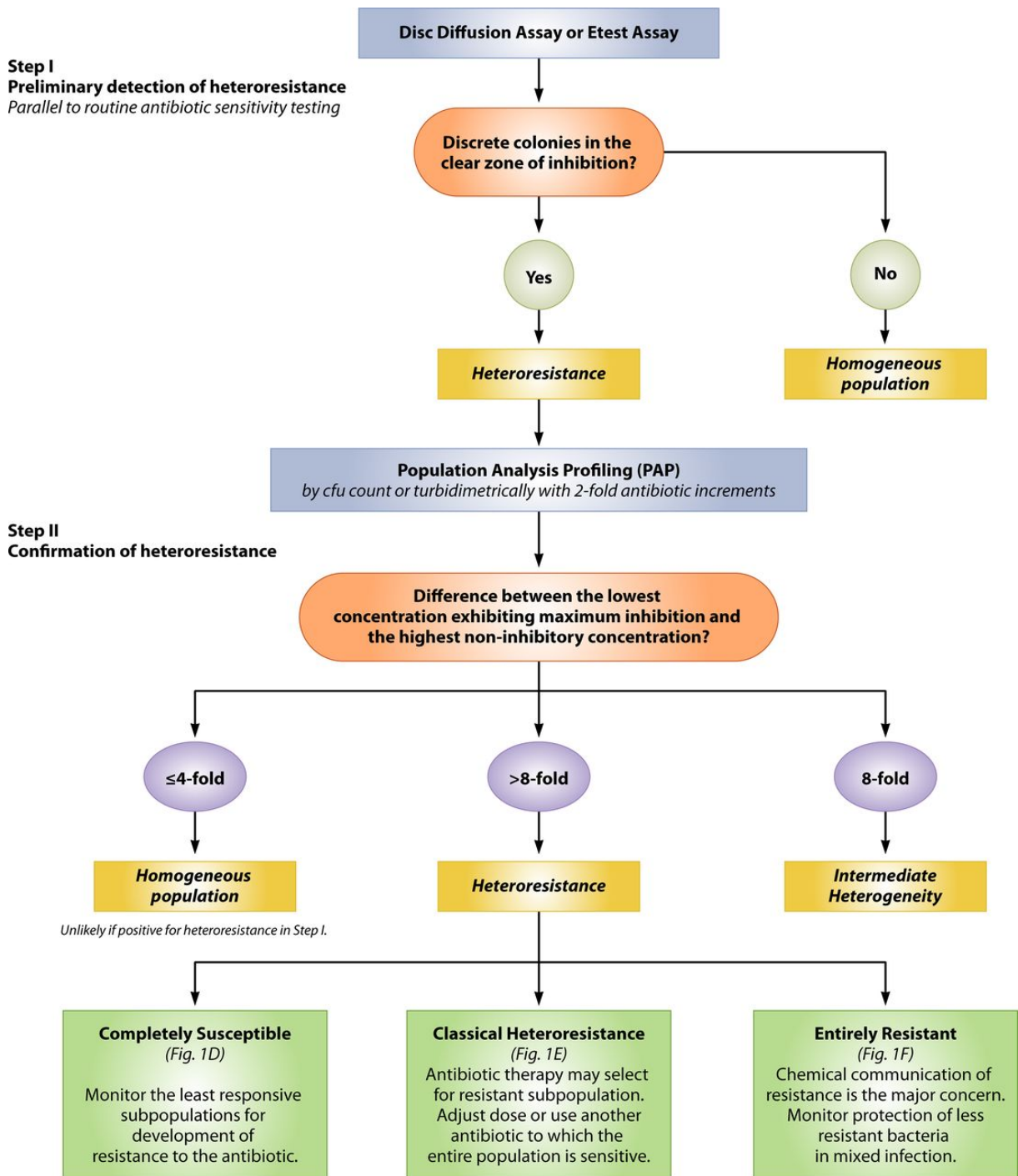
Zie foto (courtesy dr F Van Hoecke, St Andries ziekenhuis Tielt):

P. aeruginosa M/14592 met Links: het oorspronkelijke antibiogram 0.5 McF

En Rechts: herhaling van meropenem disk vanuit ingroei in linkse antibiogram

Een van de verklaringen voor dit fenomeen bij carbapenems en *P. aeruginosa* is dat er verschillen zijn tussen de native populatie en de groep heteroresistente kolonies op gebied van transcriptie van *mexB* en *mexY* genen die betrokken zijn in multidrug efflux en tevens zou er een verminderde expressie zijn van het *OprD* gen dat codeert voor een buitenste membraanproteïne (2,3).

Het klinisch belang van deze heteroresistentie is controversieel, sommige auteurs stellen het belang ervan in vraag, anderen argumenteren dat dit gepaard gaat met slechtere klinische outcome. Het klinisch belang ervan werd aangetoond bij recurrente infecties, chronische infecties en infecties met hoge mortaliteit. Bijkomende informatie over de definitie van heteroresistentie en hoe deze te gebruiken in het adviseren over welke en de dosering van antibiotica vind men terug in de review van El-Halfawy en Valvano (Clin Microbiol Rev 2015).



Bijkomende bedenkingen bij de doorgroei kolonies rond de *P. aeruginosa* stam zijn terug te vinden in de bijlage van prof G Claeys.

Referenties

Development of a national EUCAST challenge panel for antimicrobial susceptibility testing Desmet S, Verhaegen J, Glupczynski et al, *Clinical Microbiology Infection* 2016;22:704-710

Antimicrobial heteroresistance: an emerging field in need of clarity. El-Halfawy O, Valvano M. *Clin Microbiol Rev* 2015;28:191-207

Efflux system overexpression and decreased OprD contribute to the carbapenem heterogeneity in *Pseudomonas aeruginosa*. *Ikonomidis A et al. FEMS Microbiol Lett* (2008) 279 (1): 36-39

Toelichting bij isolaat M/14592 (*P. aeruginosa*, enquête 1, 2017)
Geert Claeys, Jerina Boelens UZGent

- Naar aanleiding van isolaat M/14592 (*P. aeruginosa*, enquête 1, 2017), en ook vroegere ervaringen werden in UZGent volgende experimenten uitgevoerd:
- Losse kolonies zoals beschreven in het verslag van enquête 1, 2017 werden van routine-isolaten genomen om een nieuw antibiogram te maken: losse kolonies rond meropenem blijken resistent te zijn aan meropenem, losse kolonies rond ceftazidime of pip/tazo zijn resistent aan beide antibiotica: zie figuur 1.
- Een klein aantal losse kolonies rond meropenem, ceftazidime, pip/tazo is frequent te zien bij *P. aeruginosa*. Bovendien verschijnen meer of frequenter kolonies bij een sterker inoculum, bij het bewaren van het antibiogram op kamertemperatuur... (afwijkingen van de standaardprocedures). Bij kritisch bekijken van 25 opeenvolgende *P. aeruginosa* –disk-diffusie-antibiogrammen konden we bij 50 % van de stammen ‘dergelijke fenomenen’ te zien.
- Bij het lezen van de voorschriften en reading guide van CLSI en EUCAST bemerkt men wel enige zaken over het fenomeen losse kolonies, maar wat we echt moeten doen is niet heel duidelijk (zie figuur 2)
- **Zeer kleine aantallen** losse kolonies zijn meestal te zien dicht bij de inhibitierand, als je ze inhibitiezone tot daar meet ben je meestal nog buiten het breekpunt (en dus niet als R te interpreteren), soms ligt zo een (geïsoleerde) kolonie dicht bij het schijfje, en dan is de vraag of je als R moet interpreteren: in UZGent is na lang beraad overwogen dit niet te doen bij niet-kritische infecties (urine, wond infectie zonder grote systeemweerslag), tenzij bij kritische infecties

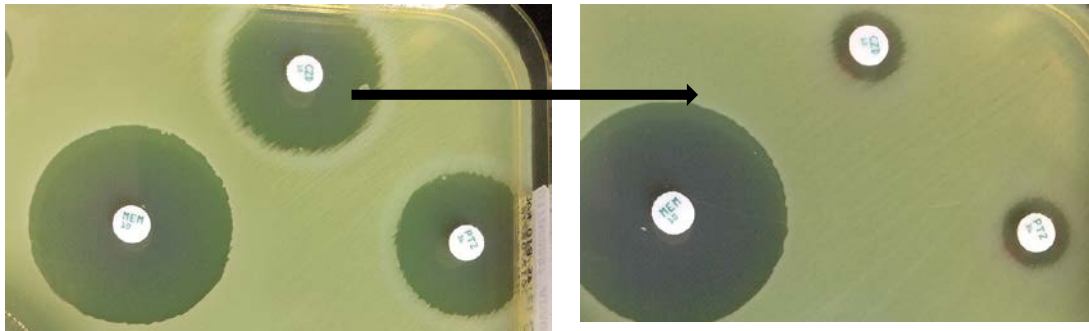
Het is bovendien zo dat je meropenem resistentie bekomt of pip/tazo + ceftazidime resistentie als je een nieuw antibiogram doet van de (intacte) rand van de inhibitiezone rond de betreffende antibioticum schijfjes, zelfs bij *P. aeruginosa* ATCC 17853. Er is dus altijd een soort dreiging van R-mutanten voor Blactams

Figuur 1



P. aeruginosa 001: Small colony (close to border) in inhibition zone around antibiogram (see photo on the right) (and left on room temperature -> larger colony next day)

P. aeruginosa 001, New Antibiogram =: meropenem-I (other meropenem disk. Colony taken for new isolates R), piptazo and ceftaz unaffected



P. aeruginosa 002 :small colony in ceftazidime inhibition zone. Colony taken for new antibiogram (see photo on the right) (and left meropenem on room temperature -> larger colony next day)



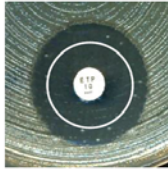

P. aeruginosa 002, New Antibiogram=: piptazo and ceftaz R(some isolates still S)

unaffected

Figuur 2

Colonies within zone

- In case of distinct colonies within zones, check for purity and repeat the test if necessary.
- If cultures are pure, colonies within zones should be taken into account when measuring the diameter.

Reading of zones with colonies within the zone. 5

Comment :

< it is not mentioned in Eucast nor CLSI to retest from the extra colonies

(comment) From the EUCAST reading guide for disk diffusion testing :

Slide 5 : the result on 4th photograph can be interpreted as 2 possibilities (one is R, the other depend on the actual diameter)

Algemeen besluiten we (in UZGent) wel het volgende:

- AST should be repeated from new samples of patients with a previous susceptible isolate from *P. aeruginosa* ... : zie volledige tekst hieronder (geldt ook voor enkele andere situaties).
- Bij dergelijke stammen contact met behandelend arts en/of rekening houden met de situatie van de patiënt; eventueel andere antibiotica (maar er zijn niet zo veel alternatieven) en/of combinatietherapie aan te bevelen

3.11.3 Development of Resistance and Testing of Repeat Isolates

Isolates that are initially susceptible may become intermediate or resistant after initiation of therapy. Therefore, subsequent isolates of the same species from a similar body site should be tested in order to detect resistance that may have developed. This can occur within as little as three to four days and has been noted most frequently in *Enterobacter*, *Citrobacter*, and *Serratia* spp. with third-generation cephalosporins; in *P. aeruginosa* with all antimicrobial agents; and in staphylococci with quinolones. For *S. aureus*, vancomycin-susceptible isolates may become vancomycin intermediate during the course of prolonged therapy.

In certain circumstances, testing of subsequent isolates to detect resistance that may have developed might be warranted earlier than within three to four days. The decision to do so requires knowledge of the specific situation and the severity of the patient's condition (eg, an isolate of *Enterobacter cloacae* from a blood culture on a premature infant). Laboratory guidelines on when to perform susceptibility testing on repeat isolates should be determined after consultation with the medical staff.

2.4 Cultuur M/14654 *Neisseria meningitidis*

Het Nationaal Referentiecentrum (NRC) voor *Neisseria meningitidis* is verantwoordelijk voor de surveillance van invasieve infecties door meningokokken.

Een stam wordt enkel als oorzakelijk beschouwd voor een invasieve infectie indien zij geïsoleerd wordt uit een normaal steriele afnameplaats (zoals bloed, CSV, enz.). Het centrum volgt hiervoor de case definitie van het ECDC die hieronder weergegeven wordt.

Bijgevolg behoort een stam die uit de luchtwegen geïsoleerd wordt niet tot de definitie van een invasieve infectie door *Neisseria meningitidis* en moet deze niet doorgestuurd worden naar het referentiecentrum.

Inderdaad, zelfs als de respiratoire infectie ernstig is, is het niet mogelijk het bewijs te leveren dat de geïsoleerde stam aan de oorsprong van de infectie ligt. 20% van de populatie is inderdaad een gezonde drager van *Neisseria meningitidis*. Dit dragerschap is voornamelijk gelokaliseerd in de bovenste luchtwegen.

Case Definition of ECDC: To be considered as a case for our surveillance system, the following case definition must be met:

- *Neisseria meningitidis* must be isolated from a normally sterile site, such as blood, cerebrospinal fluid (CSF), pleural fluid, peritoneal fluid, pericardial fluid, surgical aspirate, bone, joint fluid, or internal body site (e.g., lymph node, brain)
- Detection of *Neisseria meningitidis* nucleic acid from a normally sterile site, including purpuric skin lesions
- Detection of *Neisseria meningitidis* antigen in CSF
- Detection of gram negative stained diplococcus in CSF;

Welke houding moet de clinicus aannemen t.o.v. de isolatie van een stam uit de luchtwegen?

Als een *Neisseria meningitidis* stam gedetecteerd wordt in de onderste luchtwegen (die als steriel beschouwd dienen te worden), kan een bijbesmetting tijdens de afname nooit 100% uitgesloten worden. Desalniettemin zijn er in de literatuur zeldzame gevallen beschreven van acute pneumonie veroorzaakt door *Neisseria meningitidis* zonder het typische klinische beeld van invasieve infecties door meningokokken (zoals petechiën, meningeaal syndroom en shock...). Volgens de richtlijnen van de "Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM press)" zijn er 2 mogelijkheden:

- 1) Ofwel is de concentratie aan *Neisseria meningitidis* minder dan 10^3 CFU/ml (kwantitatieve BAL): in dit geval dient men het te beschouwen als "microbiële flora"
- 2) Ofwel is de concentratie aan *Neisseria meningitidis* groter of gelijk aan 10^3 - 10^4 CFU/ml (kwantitatieve BAL), in dit geval zijn de identificatie, de gevoeligheidsbepaling en de detectie van β -lactamasen aangewezen. Serotyperingen worden in dit geval uitgevoerd op aanvraag. Zoals hierboven vermeld, mag het laboratorium de stam naar het NRC sturen (met vermelding dat het een respiratoire afname is). Het NRC zal vervolgens een serotypering uitvoeren.

Isolatie en profylaxe:

Er zijn hierover geen richtlijnen beschikbaar. We gaan ervan uit dat de richtlijnen voor de andere microbiële verwekkers van pneumonie van toepassing zijn.

In geval van meningitis veroorzaakt door *Neisseria meningitidis*, kan dit een stam zijn waarvan de patiënt drager was of betreft het steeds een exogene stam?

De wetenschappelijke gemeenschap heeft momenteel geen duidelijk antwoord op deze vraag. Hierna vindt u wat er momenteel gekend/gepubliceerd is hierover. Vele stammen (maar niet alle) die voorkomen als drager zijn niet serogroepbaar en zijn/kunnen beschouwd worden als niet invasief. Desondanks, hebben sommige stammen die voorkomen als drager exact dezelfde kenmerken als de invasieve stammen en kunnen dus zonder twijfel een infectie veroorzaken.

Bovendien, heeft een recente publicatie (Loh et al., 2016) het bestaan aangetoond van de fijne regulatie van de expressie van een proteïne als fhpb (virulentiefactor) waaronder een thermoregulatie. Deze thermoregulatie (door een systeem van "thermometer" RNA) veroorzaakt een zwakke expressie van het fHbp proteïne in de stammen die als drager voorkomen in de naso-farynx (temperatuur tussen 32-35°C). Een temperatuurstijging bij de 'toekomstige patiënt' zou de expressie van deze proteïne kunnen veroorzaken en de intrede van de kiem in het organisme bevorderen.

Verhoogt het dragerschap van *Neisseria meningitidis* het risico op meningitis door *Neisseria meningitidis*?

De asymptomatische dragers vormen 5 à 25 % van de totale bevolking. Nochtans varieert het percentage van dragerschap in functie van de leeftijd: het is zeer laag (enkele percenten) in de 1^e levensjaren en stijgt sterk bij de adolescenten om een maximum te bereiken tussen 20 en 24 jaar (tot 30%).

Jonge adolescenten/jongvolwassenen zijn echter ook één van de risicogroepen voor het ontwikkelen van invasieve infecties door meningokokken. Tot op heden heeft de wetenschappelijke gemeenschap geen antwoord op de vraag of dit het gevolg is van dit meer uitgesproken dragerschap of dat het te wijten is aan andere factoren zoals nauwe contacten of dat het een combinatie is van factoren.

De duur van het dragerschap van een meningokok varieert van enkele dagen tot 2 jaar (met een gemiddelde van 9 maanden) maar kan ook intermitterend voorkomen. Na een besmetting worden de meeste personen tijdelijk asymptomatische dragers.

Deze tekst werd opgesteld door het NRC *Neisseria meningitidis* in samenwerking met Dr. R. Vanhoof.

Wij blijven te uwer beschikking voor alle bijkomende informatie

Dr. Sophie Bertrand en Dr Raymond Vanhoof

Referenties

Loh E, Lavender H, Tan F, Tracy A, Tang CM (2016) Thermoregulation of Meningococcal fHbp, an Important Virulence Factor and Vaccine Antigen, Is Mediated by Anti-ribosomal Binding Site Sequences in the Open Reading Frame. PLoS Pathog 12(8): e1005794. doi:10.1371/journal.ppat.1005794

III. Resultaten van de identificaties

148 laboratoria hebben een antwoord ingestuurd. Naast 145 Belgische en Luxemburgse waren dit 2 buitenlandse en één firmalaboratorium. Deze laatste 3 werden niet in de verwerking der resultaten opgenomen.

Hoewel in de Toolkit de mogelijkheid 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 staaloorsprong 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. M/6687 Niet pathogenen (*Streptococcus anginosus* groep) (keelwisser)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: “Keeluitstrijk van een jongen van 3 jaar; kliniek: koorts en keelpijn bij de huisarts; gramkleuring: wat epitheelcellen en polynucleairen en mondflora.

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

<u>Afwezigheid van pathogenen</u>	57	39.3%
<u>Aanwezigheid van commensalen</u>	19	13.1%
<i>Streptococcus constellatus</i>	32	
<i>Streptococcus constellatus ssp constellatus</i>	21	
<i>Streptococcus constellatus ssp pharyngis</i>	6	
<i>Streptococcus anginosus</i>	2	
<i>Streptococcus</i> species groep F	5	
Uitbested	3	

Een aantal laboratoria hebben dit antwoord van een opmerking voorzien:

- Afwezigheid van pathogenen
 - o wel isolatie van *Streptococcus constellatus* /groep F: 16 labo's
 - o afwezigheid = afwezigheid van *Streptococcus* van groep A, C en G: 1 labo
 - o afwezigheid = afwezigheid van *Streptococcus pyogenes*: 1 labo
 - o afwezigheid = afwezigheid van β -hemolytische streptokokken en *Arcanobacterium*: 1 labo
 - o wel aanwezigheid van commensalen: 2 labo's
- Aanwezigheid van commensalen
 - o wel isolatie van *Streptococcus constellatus/anginosus*/groep F: 7 labo's
 - o wel isolatie van *Streptococcus agalactiae*: 1 labo
 - o betekenis is onduidelijk: 1 labo
- *Streptococcus constellatus/anginosus*/groep F

- Kiem is niet pathogeen: 10 labo's
- Contact met aanvrager noodzakelijk: 1 labo
- Kiem is mogelijk pathogeen (faryngitis, abces van de amandelen, reinkultuur): 14 labo's

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
Uitbesteed	3
Wordt niet doorgestuurd	140
Totaal	145

3.2. Cultuur M/14218 *Staphylococcus lugdunensis* (etter diabetische voet)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: “Een 65-jarige diabetespatiënte heeft sinds geruime tijd een letsel aan de rechtersoet. Recent is het letsel verergerd. Er wordt een staal in de diepte van het letsel afgenomen. De gramkleuring toont de aanwezigheid van multiële ettercellen en gram positieve kokken

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.”

<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	139	95.9%
<i>Staphylococcus lugdunensis</i> + <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	0.7%
<i>Staphylococcus lugdunensis</i> + commensaal ¹	1	0.7%
Coagulase negatieve Stafylokok	1	
Aanwezigheid van commensalen	1	
Uitbested	2	

¹ Dit laboratorium specificeerde de commensaal als een *Staphylococcus haemolyticus*

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

Antwoord	N labo's
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram	1
Epidemiologische redenen	1
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram ¹	6
Uitbested	2
Wordt niet doorgestuurd	135
Totaal	145

¹ Eén laboratorium geeft aan dat het enkel de confirmatie van het antibiogram betreft (wegens resistentie aan oxacilline en cefoxitine).

3.3. Cultuur M/14592 *Pseudomonas aeruginosa* (hemocultuur)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Een 70-jarige patiënt wordt opgenomen met hoge koorts, verwardheid en algemeen onwelzijn. 3 sets hemoculturen zijn positief.

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>Pseudomonas aeruginosa</i></u>	141	97.9%
Uitbested	3	

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 + confirmatie van identificatie en/of antibiogram	1
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram	1
Uitbested	3
Andere niet gepreciseerde reden	1
Wordt niet doorgestuurd	138
<i>Totaal</i>	<i>144</i>

3.4. Cultuur M/14654 *Neisseria meningitidis* (broncho-alveolaire lavage)

Het referentiecentrum bevestigde dat het een serogroep Y betreft.

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Er wordt een broncho-alveolaire lavage verricht bij een patiënt die met een pneumonie opgenomen is op Intensieve Zorgen.

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

<i>Neisseria meningitidis</i>	126	86.9%
<i>Neisseria meningitidis</i> serogroep Y	5	3.4%
<i>Neisseria meningitidis</i> serogroep W135	2	1.4%
Afwezigheid van pathogenen	5	
Aanwezigheid van commensalen	2	
Coagulase negatieve Stafylokok	1	
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1	
Uitbested	2	

Een aantal laboratoria hebben dit antwoord van een opmerking voorzien:

- Afwezigheid van pathogenen
 - o wel isolatie van *Neisseria meningitidis*, niet te beschouwen als pathogeen: 4 labo's
 - o wel isolatie van *Neisseria* species, niet te beschouwen als pathogeen: 1 labo
- *Neisseria meningitidis*:
 - o Pneumonie met *Neisseria meningitidis* is beschreven: 7 labo's
 - o *Neisseria meningitidis* is gekend als commensaal van de luchtwegen/dragerschap met *Neisseria meningitidis* is gekend maar bekijken in functie van de kliniek: 7 labo's
 - o Contact met aanvrager noodzakelijk: 4 labo's
 - o Bijkomend onderzoek op BAL-vocht is noodzakelijk: 2 labo's
 - o Resultaten van bloed en CSV zijn noodzakelijk: 1 labo

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

Antwoord	N labo's
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram + serotypering	1
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram	24
Epidemiologische redenen + serotypering	3
Epidemiologische redenen + andere niet gepreciseerde reden	1
Epidemiologische redenen	43
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram	10
Serotypering	1
Verplichte aangifte	1
Uitbested	2
Andere niet gepreciseerde reden	1
Wordt niet doorgestuurd	58
Totaal	145

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. De laatste kolom in tabel 1 geeft het aantal laboratoria weer die vermeld hebben dat zij in routine het resultaat van het betreffende antibioticum niet aan de clinicus zouden antwoorden: het is inderdaad mogelijk dat een laboratorium bepaalde antibiotica test maar het resultaat niet (steeds) aan de clinicus antwoordt maar bvb slechts in bepaalde omstandigheden (bvb. rekening houdend met de resultaten van andere antibiotica, of gebruik van een bepaald antibioticum als marker voor andere antibiotica,...).

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

Op staal M/14218 voerden 4 laboratoria geen antibioogram uit: dit zijn de 2 labo's die vermeldden deze stalen uit te besteden, het laboratorium dat "commensalen" antwoordde en het laboratorium dat "coagulase negatieve stafylokok" antwoordde.

Op staal M/14592 voerden 4 laboratoria geen antibioogram uit: dit zijn de 3 labo's die vermeldden deze stalen uit te besteden en één laboratorium dat de reden waarom het geen antibioogram uitvoerde niet vermeldde.

4.1. Cultuur M/142181 *Streptococcus lugdunensis*

Niet alle deelnemers bepaalden de gevoeligheid voor alle antibiotica. Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid met meer dan 1 methode; enkel voor vancomycine kwamen deze resultaten in enkele gevallen niet overeen: in onderstaande tabel 4.1.1. werd verkozen het resultaat van de MIC-bepaling weer te geven.

Zes laboratoria vermeldden dat PBP2a positief is en drie dat mecA gen positief is. Meerdere laboratoria vermeldden expliciet dat de stam naar het referentiecentrum zou doorgestuurd worden vanwege de resistentie tegen oxacilline en/of cefoxitine

Tabel 4.1.1 Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/14218 (*Staphylococcus lugdunensis*)

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	Niet in routine
Oxacilline	R	125	4	-	121	4
Cefoxitine	R	120	9	-	111	69
Erythromycine	R	140	-	-	140	7
Gentamicine	S	133	132	-	1	21
Amikacine ¹	S	4	4	-	-	-
Kanamycine ²	S	1	1	-	-	1
Tobramycine ²	S	1	1	-	-	1
Clindamycine	R	139	-	-	139	1
Trimethoprim- sulfamethoxazole	S	137	137	-	-	8
Vancomycine	S	129	129	-	-	10
Teicoplanine ³	S	2	2	-	-	-

¹ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor gentamicine en amikacine; 3 laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor amikacine in plaats van voor gentamicine.

² Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor gentamicine, kanamycine en tobramycine.

³ Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor vancomycine en teicoplanine.

Het in de tabellen 4.1.2. tot en met 4.1.7. 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; deze laboratoria werden niet in de berekening der medianen, minimum en maximum opgenomen.

De resultaten van de laboratoria die Adagio gebruikt hebben om de diameters van de papieren schijfjes af te lezen vindt u in tabel 4.1.3. De berekeningen van mediaan, minimum en maximum zijn echter niet uitgevoerd voor deze laatste methode omwille van het beperkte aantal deelnemers (minimum aantal deelnemers benodigd voor statistische analyse = 6 voor ten minste 1 antibioticum). Eén laboratorium gebruikte de Sirscan om de om de diameters van de papieren schijfjes af te lezen met als resultaten "R" voor oxacilline, erythromycine, gentamicine en clindamicine en "S" voor cefoxitine, trimethoprim- sulfamethoxazole en vancomycine.

Tabel 4.1.2 Resultaten bekomen met de papieren schijfjes voor staal M/14218 (*Staphylococcus lugdunensis*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Oxacilline	5 (5)	1	6	5 – 8	-	-	5
Cefoxitine	39 (39)	30	19	12 – 24	4	-	35
Erythromycine	24 (24)	15	6	5 – 8	-	-	24
Gentamicine	21 (21)	10	30	22 – 37	21	-	-
Amikacine	1 (1)	30	25	-	1	-	-
Clindamicine	24 (24)	2	6	5 – 8	-	-	24
Trimethoprim-sulfamethoxazole	22 (24)	1.25 + 23.75	30	19 – 35	24	-	-
Vancomycine	4 (4)	30	22.5	19 – 25	4	-	-

Aangezien de resultaten "S" voornamelijk vastgesteld werden bij de schijfjes van de firma BioRad, heeft deze firma een onderzoek ingesteld; u vindt de resultaten van hun onderzoek hieronder.

Customer complaint case number

C01176287, C01176909, C01185170, C01223353
 Linked to IDD Bio-Rad parent case C01186837

Description of complaint

Cefoxitin disk 30 µg, PN 88228 - wrong resistance pattern (S instead of R) reported on external QC scheme with a *Staphylococcus lugdunensis* strain.

A&T result with Bio-Rad Cefoxitine 30µg disk has given a sensitive categorization for a Staph Coagulase negative- *S. lugdunensis*, 2017 EQC ISP Brussels - expected as a resistant strain. This was reported by 4 customers in Belgium following a 2017 EQC by Public Health Institute in Belgium (Brussels). Lots in use in customers laboratories : 6F5213, 6K5215. The *S. lugdunensis*, 2017 EQC ISP Brussels strain was returned by one of the concerned customer to Bio-Rad on 2017/04/18.

Investigation

Preliminary report S/05 showed QC controls of discs are conform for the concerned lots for retention cartridges and customer's returned ones. The returned 2017 EQC strain has given the same results as the customer ones (23-24 mm). We need to go further to identify if it is linked to the strain itself.

Objective:

Check again the affected lots (8F6213 and 8K6126) by comparison of a fresh lot number on a *S. aureus* strain of our routine control, the concerned *S. lugdunensis* strain and a *S. lugdunensis* strain from R & D and comparison with competitors discs.

Inoculum preparation

EUCAST QC strain *Staphylococcus aureus* ATCC 28213 (0,5 Mao Farland)
Staphylococcus lugdunensis 2017 EQC (returned by the customer) (0,5 Mao Farland)
Staphylococcus lugdunensis RDC 886 from Bio-Rad Steenvoorde R&D (0,5 Mao Farland)

Results:

A&T reading on 2017/08/01

		Bio-Rad Fresh lot 7B6218 exp. date 2019/02/28	Bio-Rad claimed lot 8F6213 exp. date 2018/06/15	Bio-Rad claimed lot 8K6216 exp. date 2018/10/15	Competitor OXOID lot 1641070 exp. date 2017/08	Competitor SIRSCAN lot 140404A exp. date 2016/05
	Cefoxitin 30 µg disk					
<i>S. aureus</i> ATCC 28213	24-30	1	26	27	26	26
		2	26	26	26	
		3	26	26	26	
		Moy	26	26,3	26,3	26
<i>S. lugdunensis</i> "2017 EQC returned by the customer"	R Ø <22	1	25	25	24	23
		2	26	25	25	
		3	25	26	25	
		Moy	25,3	25,3	25,0	24,0
<i>S. lugdunensis</i> RDC 886 Bio-Rad R&D	R Ø <22	1	33	32	33	32
		2	33	32	33	
		3	33	32	33	
		Moy	33	32	33	33

Conclusion :

Investigations have been completed with A&T results with competitors' disks : the 2017 EQC strain shows the same diameters (23 -24 mm), just above the critical breakpoint (22 mm) and then it is still categorized as sensitive. Then we conclude results with disks diffusion are linked to the strain itself. Moreover the EUCAST QC strain *S. aureus* ATCC 28213 shows conform diameters with all discs. No significant difference is observed with competitors discs. There is no quality issue on Bio-Rad cefoxitin 30µg disks.

Tabel 4.1.3 Resultaten bekomen met de Adagio voor staal M/14218 (*Staphylococcus lugdunensis*)

Antibioticum	Aantal gebruikers	Resultaat		
		S	I	R
Oxacilline	1	1	-	-
Cefoxitine	5	2	-	3
Erythromycine	4	-	-	4
Gentamicine	3	3	-	-
Amikacine	1	1	-	-
Clindamycine	5	-	-	5
Trimethoprim- sulfamethoxazole	5	5	-	-
Vancomycine	1	1	-	-

In tabel 4.1.4. vermeldden wij voor de Neosensitabs schijfjes de resultaten bekomen met manuele aflezing voor de schijfjes met nieuwe ladingen (« new »).

Drie laboratoria lazen de Neosensitabs met de nieuwe ladingen af met de Sirscan: één laboratorium voor cefoxitine (“R”), erythromycine (“R”), gentamicine (“S”), clindamycine (“R”) en trimethoprim-sulfamethoxazole (“S”); één laboratorium voor cefoxitine (“R”), erythromycine (“R”), amikacine (“S”), clindamycine (“R”) en trimethoprim-sulfamethoxazole (“S”) en één laboratorium voor oxacilline (“R”), erythromycine (“R”), gentamicine (“S”), trimethoprim-sulfamethoxazole (“S”) en vancomycine (“S”).

Eén laboratorium las de Neosensitabs met de klassieke ladingen (“old”) af met de Sirscan voor oxacilline (“R”).

Tabel 4.1.4 Resultaten bekomen met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/14218 (*Staphylococcus lugdunensis*)

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Oxacilline	3 (3)	1	10	9 – 10	-	-	3
Cefoxitine	11 (11)	30	20	14 – 21	-	-	11
Erythromycine	8 (8)	15	9	9 – 10	-	-	8
Gentamicine	5 (6)	10	31	28 – 43	6	-	-
Clindamycine	8 (8)	2	9	9 – 10	-	-	8
Trimethoprim-sulfamethoxazole	8 (8)	1.25 + 23.75	32	28 – 40	8	-	-
Vancomycine	4 (5)	30	20	18 – 20	5	-	-

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

Tabel 4.1.5 Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor staal M/14218 (*Staphylococcus lugdunensis*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal laboratoria</i>	<i>Resultaat</i>	<i>MIC-waarde (mg/L)</i>
Oxacilline	3	3 x R	12 mg/L; 16 mg/L; 24 mg/L
Cefoxitine	1	1 x R	8 mg/L
Erythromycine	2	2 x R	2 x ≥ 256 mg/L
Gentamicine	2	2 x S	0.023 mg/L; 0.064 mg/L
Clindamycine	2	2 x R	2 x ≥ 256 mg/L
Trimethoprim-sulfamethoxazole	2	2 x S	0.064 mg/L; 1.88 mg/L
Vancomycine	14	14 x S	5 x 0.5 mg/L; 5 x 0.75 mg/L; 2 x 1 mg/L; 2 x 1.5 mg/L

Vier laboratoria gebruikten de MIC test Strip voor de bepaling van de gevoeligheid voor vancomycine; allen bekwamen het "S" (MIC-waarden: 2 x 0.5 mg/L; 0.75 mg/L; 1 mg/L).

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

Tabel 4.1.6. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/14218 (*Staphylococcus lugdunensis*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Vitek 2</i>						<i>Vitek 2 compact</i>					
	<i>Finaal resultaat</i>			<i>Meest vermelde MIC waarde (mg/L)</i>	<i>Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)</i>	<i>Finaal 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>			<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>				
Oxacilline	-	-	58	≥ 4	53 (58)	-	-	31	≥ 4	28 (31)		
Cefoxitine	-	-	33	‡	(33)	-	-	18	‡	(18)		
Erythromycine	-	-	58	≥ 8	56 (58)	-	-	31	≥ 8	29 (31)		
Gentamicine	57	-	-	≤ 0.5	57 (57)	31	-	-	≤ 0.5	30 (31)		
Kanamycine	-	-	-	-	-	1	-	-	≤ 4	1 (1)		
Tobramycine	-	-	-	-	-	1	-	-	≤ 1	1 (1)		
Clindamycine	-	-	58	≥ 4	29 (58)	-	-	30	≥ 4	16 (30)		
Trimethoprim-sulfamethoxazole	58	-	-	≤ 10	58 (58)	27	-	-	≤ 10	26 (27)		
Vancomycine	55	-	-	≤ 0.5	45 (55)	28	-	-	≤ 0.5	25 (28)		
Teicoplanine	1	-	-	≤ 0.5	1 (1)	1	-	-	≤ 0.5	1 (1)		

‡ De Vitek geeft geen kwantitatief resultaat voor cefoxitine maar het antwoord van de cefoxitinescreening wordt als negatief of positief vermeld (voor de "eenvoudigheid" hebben wij "negatief" als "S" en "positief" als "R" vermeld).

In de meeste gevallen is de "meest vermelde MIC waarde" de enige die vermeld werd door de deelnemers. In enkele gevallen werden ook andere waarden gerapporteerd:

- voor oxacilline vonden 3 laboratoria een MIC ≥ 0.5 mg/L en 2 een MIC > 2 mg/L met Vitek 2; voor Vitek 2 compact vond één laboratorium een MIC ≤ 0.25 mg/L, één laboratorium een MIC ≥ 0.5 mg/L en één laboratorium een MIC > 2 mg/L

- voor erythromycine vonden 2 laboratoria een MIC >4 mg/L met Vitek 2; voor Vitek 2 compact vond één laboratorium een MIC ≤0.25 mg/L en één laboratorium een MIC >4 mg/L
- voor gentamicine vond 1 laboratorium een MIC ≥16 mg/L met Vitek 2 compact
- voor clindamycine vonden 2 laboratoria een MIC >2 mg/L, 26 laboratoria een MIC ≥8 mg/L en één laboratorium een MIC >16 mg/L met Vitek 2; voor Vitek 2 compact vond één laboratorium een MIC ≤0.125 mg/L, één laboratorium een MIC ≥0.4 mg/L en 12 laboratoria een MIC ≥8 mg/L
- voor trimethoprim-sulfamethoxazole vond 1 laboratorium een MIC ≥320 mg/L met Vitek 2 compact
- voor vancomycine vond 1 laboratorium een MIC ≤0.05 mg/L en 9 laboratoria een MIC van 1 mg/L met Vitek 2; voor Vitek 2 compact vonden 3 laboratoria een MIC van 1 mg/L

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 4.2.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/14218 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibioticum	Resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/L)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)
	S	I	R		
Oxacilline	1	-	18	>2	18 (19)
Cefoxitine	2	-	15	≥8	9 (17)
Erythromycine	-	-	19	>2	18 (19)
Gentamicine	19	-	-	≤1	19 (19)
Amikacine	1	-	-	≤8	1 (1)
Clindamycine	-	-	19	>1	19 (19)
Trimethoprim-sulfamethoxazole	19	-	-	≤1/19	12 (19)
Vancomycine	19	-	-	≤0.5	12 (19)

In de meeste gevallen is de “meest vermelde MIC waarde” de enige die vermeld werd door de deelnemers. In enkele gevallen werden ook andere waarden gerapporteerd :

- voor oxacilline vond 1 laboratorium een MIC van 2 mg/L (dit is het laboratorium dat “S” antwoordde)
- voor cefoxitine vonden 8 laboratoria een MIC van 4 mg/L
- voor erythromycine vond 1 laboratorium een MIC >4 mg/L
- voor trimethoprim-sulfamethoxazole vonden 6 laboratoria een MIC ≤1 mg/L en 1 laboratorium een MIC ≤0.5 mg/L
- voor vancomycine vonden 6 laboratoria een MIC van 1 mg/L en 1 laboratorium een MIC van 2 mg/L

Eén laboratorium gebruikte de ATB methode voor de bepaling van de gevoeligheid met als resultaten “R” voor oxacilline, cefoxitine, erythromycine, en clindamicine en “S” voor gentamicine, trimethoprim-sulfamethoxazole en vancomycine.

Twee laboratoria gebruikten de Microscan voor de bepaling van de gevoeligheid: het ene voor oxacilline, erythromycine, clindamicine (alle 3 “R”), gentamicine, trimethoprim-sulfamethoxazole en vancomycine (alle 3 “S”); het andere voor

oxacilline, cefoxitine, erythromycine, clindamicine (alle 4 "R"), gentamicine, trimethoprim-sulfamethoxazole en vancomycine (alle 3 "S").

Eén laboratorium gebruikte de microdilutie methode voor de bepaling van de gevoeligheid met als resultaten "R" voor oxacilline, cefoxitine, erythromycine, en clindamicine en "S" voor gentamicine, trimethoprim-sulfamethoxazole en vancomycine.

We vermelden tenslotte dat 5 laboratoria vermeldden de gevoeligheid voor oxacilline af te leiden van de gevoeligheid voor cefoxitine: 3 bekwamen het resultaat "R" en 2 het resultaat "S".

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

- Oxacilline:
 - o S→R
 - Vitek 2: 1 labo
 - o I→R
 - Neosensitabs (nieuwe ladingen), afgelezen met Sirscan: 1 labo
 - o R→S
 - Adagio: 1 labo (mede op basis van het resultaat voor cefoxitine)
- Cefoxitine
 - o S→R
 - Papieren schijfjes: 2 labo's
 - Vitek 2: 2 labo's
 - Phoenix: 6 labo's (1 waarvan 1 mede op basis van andere technieken)

4.2. Cultuur M/14592 *Pseudomonas aeruginosa*

Dit staal werd reeds verstuurd in de EKE 2009/3 onder staalnummer M/9720. Het staal werd herverstuurd om na te gaan in hoeverre de toename van het gebruik van de EUCAST-richtlijnen de interpretatie van de resultaten beïnvloedt. T.g.v. de enquête 2009/3 vermeldden 2.5% van de laboratoria de EUCAST-richtlijnen te gebruiken; t.g.v. de EKE 2017/1 bedroeg dit aantal 62%.

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 in onderstaande tabel voor piperacilline-tazobactam het resultaat weergegeven dat door de laboratoria aangegeven werd als hun "finale" resultaat; voor ceftazidime werd er geopteerd om in onderstaande tabel het meest resistente resultaat weer te geven.

Tabel 4.2.1 Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/14592 (*Pseudomonas aeruginosa*)

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	Niet in routine
Piperacilline-tazobactam	S	131	69	23	39	8
Ceftazidime	S	141	106	31	4	3
Cefotaxime ¹		1	-	-	1	1
Cefuroxime ¹		1	-	-	1	1
Cefepime ^{1,2}		7	6	1	-	2
Meropenem	S	137	136	-	1	25
Amikacine	S	127	126	-	1	7
Gentamicine	S	126	126	-	-	24
Tobramycine	S	71	71	-	-	20
Chinolone						
Ciprofloxacin	S	117	117	-	-	2
Levofloxacin	S	20	14	5	1	1
Norfloxacin		2	2	-	-	-
Ofloxacin		1	-	1	-	-

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

² Naast het hierboven reeds vermeldde laboratorium, bepaalden ook 6 andere laboratoria naast de gevoeligheid voor ceftazidime ook deze voor cefepime

Voor de beide antibiotica waarvoor de 3 "resistentiecategorieën" (S, I, R), geantwoord werden (piperacilline-tazobactam en ceftazidime) vindt u hieronder de verdeling per richtlijn:

Piperacilline-tazobactam:

CLSI (N = 46): 47.8% S, 43.5% I en 8.7% R

EUCAST (N = 80): 55.0% S, 2.5% I en 42.5% R

Ceftazidime:

CLSI (N = 48): 62.5% S en 37.5% I

EUCAST (N = 88): 81.8% S, 13.6% I en 4.5% R

Het in de tabellen 4.2.2. tot en met 4.2.8. 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; deze laboratoria werden niet in de berekening der medianen, minimum en maximum opgenomen.

De resultaten van de laboratoria die Adagio gebruikt hebben om de diameters van de papieren schijfjes af te lezen vindt u in tabel 4.2.3. Twee laboratoria gebruikten de Sirscan om de resultaten van de papieren schijfjes af te lezen: het ene voor piperacilline-tazobactam, ceftazidime, meropenem, amikacine, gentamicine, tobramycine, ciprofloxacin en levofloxacin (alle "S"); het andere voor piperacilline-tazobactam, meropenem, gentamicine, ciprofloxacin (alle 4 "S"), ceftazidime en amikacine (beide "R").

Tabel 4.2.2 Resultaten bekomen met de papieren schijfjes voor staal M/14592 (*Pseudomonas aeruginosa*)

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)</i>	<i>Lading (µg/schijfje)</i>	<i>Mediane diameter</i>	<i>Grenswaarden diameter</i>	<i>Resultaat (Totaal aantal gebruikers)</i>		
					<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Piperacilline-tazobactam ¹	(7)				7	-	-
	4	30 + 6	19	18 – 19	4	-	-
	3	100 + 10	22	22 – 23	3	-	-
Ceftazidime ¹	(7)				7	-	-
	6	10	22	20 – 24	6	-	-
	1	30	22	-	1	-	-
Cefepime	6 (6)	10	30	28 – 31	6	-	-
Meropenem	6 (6)	30	22	21 – 24	6	-	-
Amikacine	5 (5)	10	18	17 – 22	5	-	-
Gentamicine	5 (5)	10	22	21 – 23	5	-	-
Tobramycine							
Chinolone	7 (7)	5	30	27 – 34	7	-	-
Ciprofloxacin	1 (1)	5	18	-	-	1	-
Levofloxacin	1 (1)	10	28	-	1	-	-

¹ Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt.

Tabel 4.2.3 Resultaten bekomen met de papieren schijfjes voor staal M/14592 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading ($\mu\text{g/schijfje}$)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Piperacilline-tazobactam ¹	(7)				7	-	-
	4	30 + 6	19	18 – 19	4	-	-
	3	100 + 10	22	22 – 23	3	-	-
Ceftazidime ¹	(7)				7	-	-
	6	10	22	20 – 24	6	-	-
	1	30	22	-	1	-	-
Meropenem	6 (6)	10	30	28 – 31	6	-	-
Amikacine	6 (6)	30	22	21 – 24	6	-	-
Gentamicine	5 (5)	10	18	17 – 22	5	-	-
Tobramycine	5 (5)	10	22	21 – 23	5	-	-
Chinolone							
Ciprofloxacin	7 (7)	5	30	27 – 34	7	-	-
Levofloxacin	1 (1)	5	18	-	-	1	-
Norfloxacin	1 (1)	10	28	-	1	-	-
Ofloxacin	1 (1)	5	24	-	-	1	-

¹ Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt.

In tabel 4.2.4. vermeldden wij voor de Neosensitabs schijfjes de resultaten bekomen met manuele aflezing voor de schijfjes met nieuwe ladingen (« new »). In tabel 4.2.5. worden de resultaten van de schijfjes met nieuwe ladingen die met de Sirscan afgelezen werden, weergegeven. De berekeningen van mediaan, minimum en maximum zijn echter niet uitgevoerd voor deze laatste methode omwille van het beperkte aantal deelnemers.

Drie laboratoria lazen de Neosensitabs met de klassieke ladingen (“old”) manueel af: één laboratorium voor ceftazidime en cefepime (beide resultaten “S”) en twee laboratoria voor tobramycine waarvoor beiden het resultaat “S” bekwamen.

Eén laboratorium las de Neosensitabs met de klassieke ladingen (“old”) af met de Sirscan voor piperacilline-tazobactam, ceftazidime, meropenem, amikacine, gentamicine en ciprofloxacin (alle resultaten “S”).

Tabel 4.2.4 Resultaten bekomen met de Neosensitabs (nieuwe ladingen) voor staal M/14592 (*Pseudomonas aeruginosa*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)</i>	<i>Lading (µg/schijfje)</i>	<i>Mediane diameter</i>	<i>Grenswaarden diameter</i>	<i>Resultaat (Totaal aantal gebruikers)</i>		
					<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Piperacilline-tazobactam ¹	(11)				8	2	1
	2	30 + 6	18	17 – 19	1	-	1
Ceftazidime ¹	8 (10)	100 + 10	24	19 – 30	6	2	-
	2	10	19	18 – 20	2	-	-
	8	30	22	16 – 24	7	1	-
Meropenem	11 (11)	10	33	30 – 40	11	-	-
Amikacine	11 (11)	30	24	22 – 26	11	-	-
Gentamicine	6 (6)	10	20	17 – 35	6	-	-
Tobramycine	4 (4)	10	23.5	23 – 24	4	-	-
Chinolone							
Ciprofloxacin	8 (8)	5	26	22 – 35	8	-	-
Levofloxacin	2 (2)	5	20.5	18 – 23	2	-	-

¹ Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt.

Tabel 4.2.5 R Resultaten bekomen met de Sirscan met de Neosensitabs schijfjes (nieuwe ladingen) voor staal M/14592 (*Pseudomonas aeruginosa*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal gebruikers</i>	<i>Resultaat</i>		
		<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Piperacilline-tazobactam	3	3	-	-
Ceftazidime	3	3	-	-
Meropenem	3	3	-	-
Amikacine	3	3	-	-
Gentamicine	1	1	-	-
Tobramycine	1	1	-	-
Chinolone				
Ciprofloxacin	2	2	-	-
Levofloxacin	1	-	-	1

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

Tabel 4.2.6 Resultaten bekomen MIC-waarden met de E-test voor staal (*Pseudomonas aeruginosa*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Aantal laboratoria</i>	<i>Resultaat</i>	<i>MIC-waarde (mg/L)</i>
Piperacilline-tazobactam	2	2 x S	8 mg/L; 16mg/L
Ceftazidime	4	4 x S	1.5 mg/L; 3 x 2 mg/L
Meropenem	2	2 x S	0.125 mg/L; 0.19 mg/L
Amikacine	2	2 x S	3 mg/L; 4 mg/L
Gentamicine	2	2 x S	1 mg/L; 1.5 mg/L
Tobramycine	2	2 x S	0.50 mg/L; 0.75 mg/L
Chinolone			
Ciprofloxacine	2	2 x S	0.125 mg/L; 0.25 mg/L
Levofloxacine	1	1 x S	1 mg/L

Eén laboratorium gebruikte de MICE-test voor de bepaling van de gevoeligheid voor meropenem: resultaat "S" (MIC-waarde: 0.12 mg/L).

Twee laboratoria gebruikten de MIC test Strip voor de bepaling van de gevoeligheid: één laboratorium voor ceftazidime (resultaat "S"; MIC-waarde: 4 mg/L) en één laboratorium voor meropenem (resultaat "R"; MIC-waarde: 32 mg/L).

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

Tabel 4.2.7 Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/14592 (*Pseudomonas aeruginosa*).

<i>Antibioticum</i>	<i>Vitek 2</i>					<i>Vitek 2 compact</i>				
	<i>Finaal resultaat</i>			<i>Meest vermelde MIC waarde (mg/L)</i>	<i>Aantal labo's dat deze MIC waarde vermelde (Totaal aantal gebruikers)</i>	<i>Finaal resultaat</i>			<i>Meest vermelde MIC waarde (mg/L)</i>	<i>Aantal labo's dat deze MIC waarde vermelde (Totaal aantal gebruikers)</i>
	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>			<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>		
Piperacilline-tazobactam	3	15	19	32	36 (37)	4	6	15	≥32	25 (25)
Ceftazidime	21	20	1	4 en 8	19 en 19 (42)	17	10	1	4	14 (28)
Cefotaxime	-	-	-	-	-	-	-	1	>32	1 (1)
Cefuroxime	-	-	-	-	-	-	-	1	>32	1 (1)
Cefepime	4	1	-	8	5 (5)	1	-	-	8	1 (1)
Meropenem	40	-	-	≤0.25	40 (40)	27	-	-	≤0.25	27 (27)
Amikacine	34	-	-	≤2	33 (34)	25	-	-	≤2	24 (25)
Gentamicine	37	-	-	≤1	37 (37)	28	-	-	≤1	27 (28)
Tobramycine	15	-	-	≤1	15 (15)	8	-	-	≤1	8 (8)
Chinolone										
Ciprofloxacine	35	-	-	≤0.25	26 (35)	19	-	-	≤0.25	15 (19)
Levofloxacine	6	-	-	2	3 (6)	2	1	-	2	2 (3)
Norfloxacine	-	-	-	-	-	1	-	-	2	1 (1)

In de meeste gevallen is de “meest vermelde MIC waarde” de enige die vermeld werd door de deelnemers. In enkele gevallen werden ook andere waarden gerapporteerd :

- voor piperacilline-tazobactam vond 1 laboratorium een MIC ≥ 128 mg/L met Vitek 2
- voor ceftazidime vond 1 laboratorium een MIC van 2 mg/L en 3 laboratoria een MIC van 16 mg/L met Vitek 2; voor Vitek 2 compact vonden 10 laboratoria een MIC van 8 mg/L, 3 laboratoria een MIC van 16 mg/L en 1 laboratorium een MIC ≥ 64 mg/L
- voor meropenem vond 1 laboratorium een MIC van 4 mg/L met Vitek 2; voor Vitek 2 compact vond 1 laboratorium een MIC ≥ 64 mg/L
- voor gentamicine vond 1 laboratorium een MIC ≥ 16 mg/L met Vitek 2
- voor ciprofloxacin vonden 9 laboratoria een MIC van 0.5 mg/L met Vitek 2; voor Vitek 2 compact vonden 4 laboratoria een MIC van 0.5 mg/L
- voor levofloxacin vond 1 laboratorium een MIC ≤ 0.25 mg/L en 2 laboratoria een MIC van 2 mg/L met Vitek 2; voor Vitek 2 compact vond één laboratorium een MIC van 1 mg/L

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 4.2.8. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/14592 (*Pseudomonas aeruginosa*).

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	17	-	-	8	9 (17)
Meropenem	17	-	-	0.25	17 (17)
Amikacine	17	-	-	≤ 4	17 (17)
Gentamicine	16	-	-	≤ 1	14 (16)
Tobramycine	15	-	-	≤ 1	15 (15)
Chinolone					
Ciprofloxacin	15	-	-	0.5	12 (15)
Levofloxacin	1	2	-	2	2 (3)

In de meeste gevallen is de “meest vermelde MIC waarde” de enige die vermeld werd door de deelnemers. In enkele gevallen werden ook andere waarden gerapporteerd :

- voor piperacilline-tazobactam vond 1 laboratorium een MIC $< 16/4$ mg/L
- voor ceftazidime vonden 8 laboratoria een MIC van 4 mg/L
- voor gentamicine vonden 2 laboratoria een MIC van 2 mg/L
- voor ciprofloxacin vonden 3 laboratoria een MIC ≤ 0.25 mg/L
- voor levofloxacin vond 1 laboratorium een MIC van 1 mg/L

Eén laboratorium gebruikte de ATB methode voor de bepaling van de gevoeligheid voor ceftazidime, meropenem, amikacine, gentamicine, tobramycine en ciprofloxacin (alle resultaten « S »).

Twee laboratoria gebruikten de Microscan voor de bepaling van de gevoeligheid: het ene voor piperacilline-tazobactam, ceftazidime, meropenem, amikacine, gentamicine, tobramycine en levofloxacin; het andere voor piperacilline-tazobactam, ceftazidime, meropenem, amikacine en ciprofloxacin; beide laboratoria bekwamen het resultaat “S” voor alle antibiotica.

Eén laboratorium gebruikte de microdilutie methode voor de bepaling van de gevoeligheid piperacilline-tazobactam, ceftazidime, meropenem, amikacine, gentamicine, tobramycine en ciprofloxacin; alle resultaten waren “S”.

We vermelden tenslotte dat 1 laboratorium vermeldde dat het resultaat “S” voor levofloxacin afgeleid werd van het resultaat voor ciprofloxacin.

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:

- Piperacilline-tazobactam:
 - o S→R
 - Papieren schijfjes: 1 labo (mede op basis van andere technieken) (Richtlijn) : EUCAST)
 - Vitek 2: 1 labo (Dir: CLSI)
 - o S→I
 - Vitek 2: 6 labo's (waarvan 1 mede op basis van andere technieken) (RI: CLSI)
 - Vitek 2 compact: 4 labo's (waarvan 1 mede op basis van andere technieken) (RI: 3 CLSI, 1 FDA)
 - o R→I
 - Vitek 2: 1 labo (RI: EUCAST)
 - Vitek 2 compact: 1 labo (RI: EUCAST)
 - o R→S
 - Vitek 2: 1 labo (mede op basis van andere technieken) (RI: EUCAST)
 - Vitek 2 compact: 1 labo (mede op basis van andere technieken) (RI: niet-CLSI, niet-EUCAST)
- Ceftazidime
 - o S→I
 - Vitek 2: 15 labo's (RI: 8 CLSI, 7 EUCAST)
 - Vitek 2 compact: 7 labo's (waarvan 1 mede op basis van andere technieken) (RI: 4 EUCAST, 2 CLSI, 1 niet-CLSI, niet-EUCAST)
- Cefepime
 - o S→I
 - Vitek 2: 1 labo (mede op basis van andere technieken) (RI: CLSI)

5.1 De monsters

Ter gelegenheid van deze enquête werden 2 bloeduitstrijkjes verzonden.
160 laboratoria namen deel aan de enquête.

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 /14250

Een 50-jarige man heeft zijn dochter bezocht die op stage is in het Braziliaanse Amazonegebied. Hij heeft geen anti-malariaprofylaxe genomen. Eén week na zijn terugkeer vertoont hij koorts en tekens van algemeen onwelzijn.

P/14630

Een veertiger biedt zich 2 maanden na terugkeer uit Togo aan op de consultatie reizigersgeneeskunde. Sinds 8 dagen heeft hij om de 2 dagen koorts met hoofdpijn.

Staal P/14250 was negatief: het bevatte geen parasieten.

Staal P/14630 bevatte trofozoïeten en (zeldzame) gametocyten van *Plasmodium ovale*.

De laboratoria met een paar als met een onpaar erkenningsnummer kregen hetzelfde staal; de onpare laboratoria ontvingen echter een staal afgenomen op heparine en de pare een staal afgenomen op K-EDTA.

Het resultaat van staal P/14630 werd 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 Resultaten voor staal P/14250

De 160 laboratoria hebben 160 antwoorden ingeleverd. 157 laboratoria antwoordden “afwezigheid van parasieten” en 3 laboratoria antwoordden één parasiet.

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven :

Tabel 5.2.1 Resultaten voor staal P/14250

Resultaat	Aantal
Afwezigheid van parasieten	157
<i>Plasmodium falciparum</i>	1
<i>Plasmodium malariae</i>	1
<i>Plasmodium ovale</i>	1
Totaal	160

Het laboratorium dat “*P. ovale*” antwoordde, heeft wellicht beide stalen verwisseld: voor staal P/14630 antwoordde dit laboratorium immers “Afwezigheid van parasieten”.

Drie laboratoria vermeldden dat ze in routine ook steeds een antigeen test zouden uitvoeren en twee laboratoria dat ze een controlestaal zouden vragen. Twee laboratoria raadden het uitvoeren van (voornamelijk virale) serologie aan; één laboratorium raadde serologie en afname van een controlestaal aan en zou het staal naar het referentiecentrum doorsturen.

8 laboratoria zouden in routine het staal doorsturen naar een referentielaboratorium: het laboratorium dat “*P. ovale*” antwoordde en 7 laboratoria die “Afwezigheid van parasieten” antwoordden. Tot deze 7 behoren het in de voorgaande paragraaf vermelde laboratorium en één laboratorium dat vermelde enkele verdachte elementen waargenomen te hebben.

5.3 Resultaat voor staal P/14630

Gezien er geen noemenswaardige verschillen vastgesteld werden tussen de resultaten van de laboratoria die het staal afgenomen op heparine ontvingen en deze die het staal afgenomen op K-EDTA ontvingen, worden de resultaten van dit staal als één geheel behandeld.

159 laboratoria antwoordden de aanwezigheid van één parasiet en één laboratorium antwoordde "Afwezigheid van parasieten".

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven :

Tabel 5.3.1 Resultaats voor staal P/14630

Resultaat	Aantal
<i>Plasmodium ovale</i>	98
<i>Plasmodium non-falciparum</i>	46
<i>Plasmodium malariae</i>	4
<i>Plasmodium vivax</i>	2
<i>Plasmodium falciparum</i>	8
<i>Plasmodium species</i>	1
Afwezigheid van parasieten	1
Totaal	160

Het laboratorium dat "Afwezigheid van parasieten antwoordde, heeft wellicht beide stalen verwisseld (cfr. hoofdstuk 5.2).

Zoals reeds hoger vermeld, zijn de resultaten bekomen door de laboratoria die het staal afgenomen op heparine ontvingen en deze die het staal afgenomen op K-EDTA ontvingen vergelijkbaar:

- pare laboratoria (afname op K-EDTA) (N totaal = 93): 56 *P. ovale*, 28 *P. non-falciparum*, 2 *P. malariae*, 6 *P. falciparum* en 1 afwezigheid van parasieten.
- onpare laboratoria (afname op heparine) (N totaal = 67): 42 *P. ovale*, 18 *P. non-falciparum*, 2 *P. malariae*, 2 *P. vivax*, 2 *P. falciparum* en 1 *Plasmodium species*

Eén laboratorium dat *P. ovale* antwoordde, vermeldde dat een menginfectie met *P. malariae* niet uitgesloten kan worden; twee vermeldden dat het ook een *P. malariae* zou kunnen zijn en één dat het een *P. vivax* zou kunnen zijn.

Van de laboratoria die *Plasmodium non-falciparum* antwoordden, vermeldden 21 dat het vermoedelijk een *P. ovale* betreft, één dat het vermoedelijk een *P. malariae* betreft en één dat het vermoedelijk een *P. vivax* betreft.

Het laboratorium dat *Plasmodium species* antwoordde, vermeldde dat het vermoedelijk een *P. ovale* betreft.

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Plasmodium ovale* worden in tabel 5.3.2. weergegeven. 58 laboratoria hebben 1 evolutiestadium geantwoord, 32 laboratoria hebben 2 evolutiestadia geantwoord en 8 laboratoria hebben 3 evolutiestadia geantwoord. De combinaties van de evolutiestadia worden weergegeven in tabel 5.3.3.

Tabel 5.3.2 Evolutiestadia voor *Plasmodium ovale* voor staal P/14630

Evolutiestadium	Aantal
Trofozoïet	97
Schizont	27
Gametocyt	21
Niet gepreciseerd	1
Totaal	146

Tabel 5.3.3 Combinaties van de evolutiestadia voor *Plasmodium ovale* voor staal P/14630

Aantal Stadia	Evolutiestadium	Aantal
1 stadium	Trofozoïet	57
	Niet gepreciseerd	1
2 stadia	Trofozoïet + schizont	19
	Trofozoïet + gametocyt	13
3 stadia	Trofozoïet + gametocyt + schizont	8
Totaal		98

Aantal parasieten geantwoord voor *P. ovale*.

Eén laboratorium vermeldde de aanwezigheid van 100 trofozoïeten per plaatje.

Eén laboratorium vermeldde de aanwezigheid van 1 schizont per plaatje en 2 de aanwezigheid van 1 à 2 schizonten per plaatje.

Eén laboratorium vermeldde de aanwezigheid van >100 aseksuele parasieten/ μ l (trofozoïeten en schizonten).

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

Tabel 5.3.4 Aantal parasieten per evolutiestadium voor *Plasmodium ovale* voor staal P/14630

%	N labo's		
	Trofozoïet	Gametocyt	Schizont
<1	17 ¹	19	21
1	8	2	1
1 à 2	20		1
2	10		
2 à 3	14		
3	3		
3 à 4	2		
4	8		
5	2		
6	2		
8	2		
5 à 10	3		
10	1		
12	1		
20	2		

¹ Eén laboratorium preciseerde dat het 0.06 % trofozoïeten betreft

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Plasmodium non-falciparum* worden in tabel 5.3.5. weergegeven. 32 laboratoria hebben 1 evolutiestadium geantwoord en 14 hebben twee evolutiestadia geantwoord. De combinaties van de evolutiestadia worden weergegeven in tabel 5.3.6.

Tabel 5.3.5 Evolutiestadia voor *Plasmodium non-falciparum* voor staal P/14630

<i>Evolutiestadium</i>	<i>Aantal</i>
Trofozoïet	46
Schizont	8
Gametocyt	8
Totaal	60

Tabel 5.3.6 Combinaties van de evolutiestadia voor *Plasmodium non-falciparum* voor staal P/14630

<i>Aantal Stadia</i>	<i>Evolutiestadium</i>	<i>Aantal</i>
1 stadium	Trofozoïet	32
2 stadia	Trofozoïet + schizont	8
	Trofozoïet + gametocyt	6
Totaal		46

Aantal parasieten geantwoord voor *Plasmodium non-falciparum*

Twee laboratoria vermeldden de aanwezigheid van >100 aseksuele parasieten/ μ l (trofozoïeten; één van beide preciseerde dit als 5280 aseksuele parasieten/ μ l).

Voor de overige laboratoria wordt een overzicht van de aantallen per evolutiestadium uitgedrukt in ‰ RBC weergegeven in tabel 5.3.7.

Tabel 5.3.7 Aantal parasieten per evolutiestadium voor *Plasmodium non-falciparum* voor staal P/14630

<i>‰</i>	<i>N labo's</i>		
	Trofozoïet	Gametocyt	Schizont
<1	8	6	8
1	2		
1 à 2	16		
2	2		
2 à 3	4		
3	1		
3 à 4	1		
4	2		
5	3		
6	1		
5 à 10	4		

83 laboratoria zouden het staal in routine naar een referentiecentrum doorsturen voor (bevestiging van) de identificatie: 48 laboratoria die *P. ovale* antwoordden, 27 laboratoria die *Plasmodium non-falciparum* antwoordden, 5 die *P. falciparum* antwoordden, 2 die *P. malariae* antwoordden en 1 dat *Plasmodium* species antwoordde.

5.4. Commentaar op de enquête

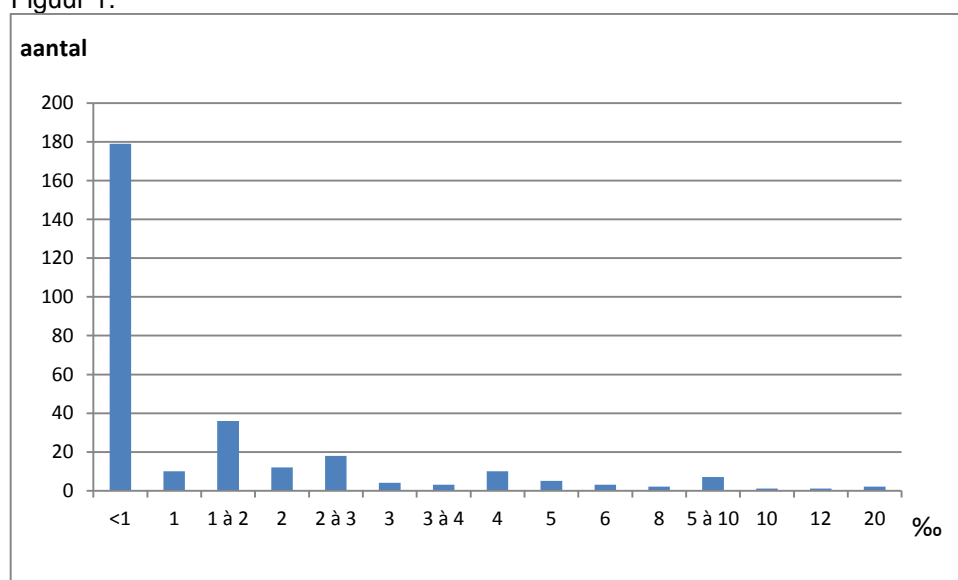
De resultaten van de enquête waren goed met slechts 10/160 (6.25%) onaanvaardbare antwoorden (*major errors*) (Tabel 1). Omwille van de implicaties naar de behandeling toe is het missen of het ten onrechte antwoorden van *P. falciparum* en het antwoorden van *Plasmodium* species zonder uitspraak te doen over de aan- of afwezigheid van *P. falciparum*, niet aanvaardbaar. Het antwoorden van *P. non-falciparum*, *P. malariae* of een ander species is heeft die implicaties niet en is aanvaardbaar (*minor error*).

Tabel 1. Beoordeling van de resultaten van staal P/14630.

Groep	Antwoord	Commentaar	Score (n, %)
Groep I	<i>P. ovale</i> <i>P. non-falciparum</i> , vermoedelijk <i>P. ovale</i>	Correct	119 (74.4%)
Groep II	<i>P. non-falciparum</i> <i>P. malariae</i> <i>P. vivax</i>	Minor error Aanvaardbaar	31 (19.4%)
Groep III	<i>P. falciparum</i> <i>Plasmodium</i> species vermoedelijk <i>P. ovale</i> Afwezigheid van parasieten	Major error	10 (6.25%)

De verdeling van de parasitemie is te zien in Figuur 1. De laboratoria die een sterk afwijkende parasitemie antwoordden, wordt aangeraden hun telling opnieuw te bekijken. Voor manieren om dat te doen, wordt verwezen naar het commentaar van 2016/1.

Figuur 1.



De helft van de laboratoria ontving een uitstrijkje gemaakt van heparinebloed en de andere helft een uitstrijkje gemaakt van bloed afgenomen op K-EDTA. De reden daarvoor was praktisch, het heparinebloed werd afgenomen in het kader van een studie en nadien gerecupereerd voor de enquête. Het bloed werd een tijdje op heparine bewaard alvorens de uitstrijkjes werden gemaakt. Dat leidde nochtans niet tot een verschil in beoordeling.

Voor het beste resultaat (heldere kleuring, beste hechting op glaasjes) worden stalen voor microscopie van malaria best afgenomen zonder anticoagulans. Heparine kan een effect hebben op de morfologie van de parasieten en de kleuring en dat geldt in mindere mate ook voor EDTA. Als het bloed snel wordt verwerkt, stelt dat niet veel problemen.

Uit praktische overwegingen wordt bij malariaonderzoek meestal gebruikt gemaakt van stalen met anticoagulans en dan heeft EDTA de voorkeur. Als enkel heparinebloed beschikbaar is, is het niet nodig de procedures aan te passen.

Bij deze enquête werd voor het eerst de mogelijkheid geboden de parasitemie te antwoorden in asexuele parasieten (AP) (trofozoïeten en schizonten)/ μ l, wat de methode is die wordt aangeraden door de WHO. Er traden echter wat problemen op.

Bij selectie van het aantal asexuele parasieten/ μ L kon men enkel waarden tussen 0 en >100 selecteren terwijl een range van <50 - 500.000 AP/ μ l klinisch relevanter is en meer in overeenstemming met wat geantwoord kan worden als men de parasitemie in ‰ uitdrukt.

Daarnaast was men ook verplicht de parasitemie van gametocyten en schizonten in te voeren, terwijl deze niet meegeteld worden bij het aantal AP. Oplossingen daarvoor zijn de aanwezigheid van seksuele vormen te vermelden bij opmerkingen of bij parasitemie “<1” in te vullen en bij opmerkingen te zetten dat dit betekent: “worden niet geteld”.

Er wordt nagegaan of en hoe aan deze problemen verholpen kan worden.

Marjan Van Esbroeck, ITG Antwerpen

6.1 Rubella**6.1.1 De stalen**

Er werden 2 stalen rondgestuurd: IS/13136 en IS/13139.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

IS/13136 Een jonge vrouw biedt zich aan bij haar huisarts voor een prezwangerschapsonderzoek.

Naar eigen zeggen werd zij in haar jeugd gevaccineerd doch het vaccinatieboekje is verloren gegaan. De arts neemt een bloedstaal af ter controle van de antistoffen.

IS/13139 Een zwangere dame die in een opvangtehuis voor vluchtelingen verblijft, meldt zich bij de aanwezige arts met rash en koorts. Er zijn geen gegevens bekend over haar vaccinatiestatus

De verwachte resultaten waren:

IS/13136:	IgG: positief IgM: negatief Interpretatie: Immuniteit
IS/13139:	IgG: positief IgM: negatief Interpretatie: Immuniteit

6.1.2 De deelnemers

134 klinische laboratoria hebben hun antwoorden ingevuld.

Daarnaast voerde ook één firmalaboratorium de testen uit. Het gebruikte de recomBlot Rubella IgG kit (Mikrogen, verdeler Euribel) met voor beide stalen een positief resultaat.

Op staal IS/13136 voerden 15 laboratoria 1 test uit, 115 laboratoria 2 testen, 2 laboratoria 3 testen en 2 laboratoria 4 testen.

Op staal IS/13139 voerden 14 laboratoria 1 test uit, 116 laboratoria 2 testen, 2 laboratoria 3 testen en 2 laboratoria 4 testen.

Onderstaande tabel geeft de uitgevoerde parameters per laboratorium weer

Tabel 6.1.1 Aantal deelnemers verdeeld per uitgevoerde parameters

<i>N testen</i>	<i>Uitgevoerde parameters</i>	<i>IS/13136</i>	<i>IS/13139</i>
1 test	IgG	15	14
2 testen	IgG + IgM	115	116
3 testen	IgG + 2 IgM	2	2
4 testen	2 IgG + 2 IgM	2	2
Totaal		134	134

Op staal IS/13136 werden dus 136 bepalingen van de IgG en 123 van de IgM uitgevoerd (m.a.w. 259 bepalingen in totaal).

Op staal IS/13139 werden dus 136 bepalingen van de IgG en 124 van de IgM uitgevoerd (m.a.w. 260 bepalingen in totaal).

6.1.3 Gebruikte Reagentia

Voor IgG

Tabel 6.1.2 Reagentia gebruikt voor de bepaling van Rubella IgG

Fabrikant	Reagens	IS/13136	IS/13139
Abbott	Architect Rubella IgG	32	32
Beckman (verdelers Analis)	Unicel DXi Rubella IgG	7	7
	Access Rubella IgG	2	2
bioMérieux	VIDAS Rub IgG II	12	12
DiaSorin	Liaison Rubella IgG	22	22
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros immunodiagnostic products	3	3
	Rubella IgG		
Roche	Cobas Rubella IgG	35	35
	Modular Rubella IgG	7	7
	Elecsys Rubella IgG	5	5
Siemens	ADVIA Centaur Rubella IgG	6	6
	Immulite Rubella IgG	4	4
	Enzygnost anti Rubella virus IgG	1	1
Totaal		136	136

Voor IgM

Tabel 6.1.3 Reagentia gebruikt voor de bepaling van Rubella IgM

Fabrikant	Reagens	IS/13136	IS/13139
Abbott	Architect Rubella IgM	29	29
Beckman (verdelers Analis)	Unicel DXi Rubella IgM	5	5
	Access Rubella IgM	3	3
bioMérieux	VIDAS Rub IgM	16	16
DiaSorin	Liaison Rubella IgM	21	22
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros immunodiagnostic products	1	2
	Rubella IgM		
Roche	Cobas Rubella IgM	29	28
	Modular Rubella IgM	5	5
	Elecsys Rubella IgM	4	4
Siemens	ADVIA Centaur Rubella IgM	6	6
	Immulite Rubella IgM	3	3
	Enzygnost anti Rubella virus IgM	1	1
Totaal		123	124

6.1.4 Resultaten

Staal IS/13136

IgG

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat. De laboratoria die 2 verschillende technieken gebruikten, bekwamen met beiden een positief resultaat.

Voor de kits met een voldoende aantal gebruikers ($N \geq 6$) hebben wij de mediaan, minimum en maximum berekend. U vindt deze gegevens in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.4 Mediaan, minimum en maximum bekomen voor IgG voor staal IS/13136

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off
Architect Rubella IgG (IU/mL)	32	29.9	25.0	36.0	10.0
Unicel DXi Rubella IgG (IU/mL)	7	36.5	32.6	54.4	15.0
VIDAS Rub IgG II (IU/mL)	12	52.0	33.0	57.0	15.0
Liaison Rubella IgG (IU/mL)	22	34.0	20.7	47.0	10.0
Cobas Rubella IgG (IU/mL)	35	111.2	100.3	140.0	10.0
Modular Rubella IgG (IU/mL)	7	114.5	104.2	121.0	10.0
ADVIA Centaur Rubella IgG (IU/mL)	6	290.0	252.3	410.0	10.0

IgM

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat. De laboratoria die 2 verschillende technieken gebruikten, bekwamen met beiden een negatief resultaat

Interpretaties

De meeste laboratoria kozen voor de interpretatie "Immunitet". Twee van de laboratoria die enkel de IgG bepaalden, stelden dat de serologie enkel interpreteerbaar is als ook IgM wordt uitgevoerd; de overige labo's die enkel IgG bepaalden, kozen voor "Immunitet".

Een overzicht van de interpretaties wordt weergegeven in tabel 6.1.5.

Tabel 6.1.5 Interpretaties voor staal IS/13136

Interpretatie	Aantal laboratoria
Immunitet	132
Serologie enkel interpreteerbaar indien ook IgM wordt uitgevoerd (wordt niet uitgevoerd in het labo). ¹	2
Totaal	134

¹ Interpretaties gegeven door laboratoria die enkel de IgG bepaalden (resultaat = positief)

122 van de laboratoria die "Immunitet" antwoordden, vermeldden een opmerking. Deze opmerkingen worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.6 Opmerkingen gegeven door de laboratoria die “Immunititeit” geantwoord hebben voor staal IS/13136.

Opmerking	Aantal laboratoria
Een bevestiging is niet nodig	120
Een bevestiging is aangewezen via een nieuwe afname ¹	2
Totaal	122

¹ Eén van deze beide laboratoria verklaarde steeds een tweede afname te vragen om mogelijke pre-analytische problemen (vb. staalverwisseling) uit te sluiten

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

- IgG en IgM (wel IgG en IgM met 2^e methode): 2 labo's
- IgM (wel IgM met 2^e methode en IgG): 2 labo's
- IgM (wel IgG): 27 labo's

Staal IS/13139

IgG

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat. De laboratoria die 2 verschillende technieken gebruikten, bekwamen met beiden een positief resultaat.

Voor de kits met een voldoende aantal gebruikers (N ≥6) hebben wij de mediaan, minimum en maximum berekend. U vindt deze gegevens in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.7 Mediaan, minimum en maximum bekomen voor IgG voor staal IS/13139

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off
Architect Rubella IgG (IU/mL)	32	25.9	21.9	33.2	10.0
Unicel DXi Rubella IgG (IU/mL)	7	33.0	30.0	45.8	15.0
VIDAS Rub IgG II (IU/mL)	12	40.5	27.0	49.0	15.0
Liaison Rubella IgG (IU/mL)	22	39.9	25.5	58.0	10.0
Cobas Rubella IgG (IU/mL)	35	28.7	25.0	41.9	10.0
Modular Rubella IgG (IU/mL)	7	30.3	24.0	32.6	10.0
ADVIA Centaur Rubella IgG (IU/mL)	6	222.1	198.7	247.0	10.0

IgM

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat. De laboratoria die 2 verschillende technieken gebruikten, bekwamen met beiden een negatief resultaat.

Interpretaties

De meeste laboratoria kozen voor de interpretatie “Immunititeit”.

Zeven van de laboratoria die enkel de IgG bepaalden, kozen voor “Mogelijkheid van een recente infectie”; ook 1 laboratorium dat IgG (positief) en IgM (negatief) bepaalde, koos voor deze optie.

Eén van de laboratoria die enkel de IgG bepaalden, stelde dat het niet mogelijk is een onderscheid te maken tussen “Immunititeit” en “Mogelijkheid van een recente

infectie” zonder IgM; drie van deze labo's antwoordden dat de serologie enkel interpreteerbaar is als ook IgM wordt uitgevoerd. De overige drie laboratoria die enkel IgG bepaalden, kozen voor “Immunititeit”.

Eén laboratorium antwoordde “Rash niet veroorzaakt door Rubella”; en één laboratorium (dat een positief resultaat bekam voor de IgG) antwoordde “Geen immunititeit” (verkeerd vakje aangevinkt in de toolkit?)

Een overzicht van de interpretaties wordt weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.8 Interpretaties voor staal IS/13139

<i>Interpretatie</i>	<i>Aantal laboratoria</i>
Immuniteit	120
Mogelijkheid van een recente infectie ¹	8
Bijkomend Rubella IgM laten bepalen om het onderscheid tussen recente infectie of immuniteit te maken. ²	1
Serologie enkel interpreteerbaar indien ook IgM wordt uitgevoerd (wordt niet uitgevoerd in het labo). ²	3
Rash niet veroorzaakt door Rubella ³	1
Geen immuniteit ³	1
Totaal	134

¹ Zeven van deze laboratoria bepaalden enkel de IgG (positief); het laatste bepaalde IgG (positief) en IgM (negatief).

² Interpretaties gegeven door laboratoria die enkel de IgG bepaalden (resultaat = positief).

³ Interpretaties gegeven door laboratoria die voor de IgG een positief resultaat bekwamen en een negatief voor de IgM.

110 van de laboratoria die “Immunititeit” antwoordden, vermeldden een opmerking. Deze opmerkingen worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.9 Opmerkingen gegeven door de laboratoria die “Immunititeit” geantwoord hebben voor staal IS/13139.

<i>Opmerking</i>	<i>Aantal laboratoria</i>
Een bevestiging is niet nodig	102
Een bevestiging is aangewezen via een nieuwe afname ¹	8
Totaal	110

¹ Twee laboratoria vermelden dat hierbij de opvolging van de titerstijging dient nagekeken te worden om een seroconversie uit te sluiten. Twee laboratoria vermelden dat andere serologische (o.a. Parvovirus B19 volgens één van beide) en/of bacteriologische onderzoeken dienen uitgevoerd te worden. Eén laboratorium verklaarde steeds een tweede afname te vragen om mogelijke pre-analytische problemen (vb. staalverwisseling) uit te sluiten.

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

- I IgG en IgM (wel IgG en IgM met 2^e methode): 2 labo's
- IgM (wel IgG en IgM met 2^e methode): 2 labo's
- IgM (wel IgG): 1 labo
- IgG (wel IgM): 1 labo

Commentaar op de resultaten van het onderzoek

Algemeen beschouwd zijn de bekomen resultaten van deze rubella EQC zeer goed. Een vreemde interpretatie zagen we wel voor staal IS/12139 (met klinische informatie: zwangere vluchteling, rash en koorts), waar 7 laboratoria die enkel een IgG bepaling uitvoerden (zonder IgM) toch voor de "mogelijkheid van een recente infectie" kozen. Deze interpretatie kan tot verwarring leiden bij de clinicus en mogelijk tot verkeerde diagnoses. Indien er geen IgM wordt uitgevoerd in het laboratorium, kan er geen uitspraak worden gedaan over een al dan niet aanwezigheid van een recente infectie op basis van 1 bloedafname! In dit kader wensen we echter te benadrukken dat de meeste positieve rubella IgM resultaten die worden gezien in de Belgische laboratoria, vanuit klinisch standpunt, vals positieve resultaten zijn. Een laboratorium dat positieve resultaten bekomt voor IgM kan het staal naar één van de 2 Nationale Referentie Centra (NRC) sturen voor bevestiging. Het NRC zal bijkomende testen uitvoeren zoals andere technieken voor de IgM, een IgG anti-E2 western blot en/of een IgG-aviditeitstest.

Ondanks de internationale standaardisatie van rubella IgG bepalingen ("IU/ml"), blijken er toch zeer grote kwantitatieve verschillen tussen de gebruikte methodes te bestaan. De resultaten van staal IS/12136 (zie tabel 6.1.4) illustreren dit duidelijk: er is ongeveer een tienvoudig verschil tussen de mediane rubella IgG waarden van de methodes met de hoogste (Advia) en laagste (Architect) resultaten. Ook bij staal IS/12139 worden belangrijke verschillen gezien.

Deze twee EQC stalen illustreren bovendien nog een opvallend gegeven: de verschillen tussen de rubella IgG methodes zijn niet steeds bij elk staal (of elke patiënt) even groot. Vergelijk bijvoorbeeld de mediaan van de beide stalen van de twee meest frequent gebruikte methodes in België: voor staal IS/12136 is deze voor Architect 29.9 IU/ml en voor Cobas 111.2 IU/ml, terwijl voor staal IS/12139 dit voor Architect 25.9 IU/ml bedraagt en voor Cobas 28.7 IU/ml.

Deze problematiek van de rubella IgG methodeverschillen is recentelijk nog aangekaart in een uitgebreide wetenschappelijke review, waar de "internationale standaardisatie" terecht is bekritiseerd en becommentarieerd. (1) Deze standaardisatie problematiek zou in de praktijk voor de individuele patiënt klinische consequenties kunnen hebben indien rubella IgG resultaten tussen laboratoria met verschillende methodes worden vergeleken.

- 1) In geval van een positief IgM resultaat en men bijgevolg IgG "titerwijzigingen" wenst aan te tonen tussen verschillende bloedafnames van een patiënt, moet dit steeds met dezelfde methode en bij voorkeur binnen hetzelfde laboratorium geëvalueerd worden. Indien dit niet gebeurt zouden pseudotoenames of -dalingen van rubella IgG kunnen worden gezien.

- 2) Alhoewel in deze externe kwaliteitsevaluatie geen kwalitatieve verschillen tussen de laboratoria en methodes zijn waargenomen (wat overigens een uitstekend resultaat is!), komt het in de praktijk wel voor dat een patiënt rubella IgG seronegatief of seropositief is naargelang het bloed in verschillende laboratoria is geanalyseerd. Dit kan bijgevolg door een clinicus worden geïnterpreteerd als IgG seroconversie en mogelijk tot een foutieve diagnose leiden. Eveneens kan dit tot een ander vaccinatiebeleid voor de patiënt leiden.

Naast de mogelijke consequenties voor de individuele patiënt is het ook aannemelijk dat rubella IgG seroprevalentie verschillen tussen populaties of binnen populaties over de tijd heen deels te wijten kunnen zijn aan rubella IgG methodeverschillen. (2) Men kan zich ook afvragen of het gebruik van verschillende IgG methodes tussen laboratoria ook leidt tot schijnbaar andere rubella IgG seroprevalenties per laboratorium.

M. Berth, AML en M.-L. Delforge (voor het referentiecentrum)

Referenties

Dimech W, Grangeot-Keros L, Vauloup-Fellous C. Standardization of assays that detect anti-rubella virus IgG antibodies. Clin Microbiol Rev 2016;29:163-74.

Dimech W, Mulders MN. A review of testing used in seroprevalence studies on measles and rubella. Vaccine 2016;34:4119-22.

6.2 Legionella antigen

De stalen

Er werden 2 urinestalen (Ag/14680 en Ag/14681) rondgestuurd waarop de bepaling van het Legionella-antigen gevraagd werd. Staal Ag/14680 was positief en staal Ag/14681 was negatief.

Staal Ag/14680 werd reeds verstuurd in de EKE's 2011/2 onder staalnummer Ag/11069 en 2010/2 onder staalnummer Ag/10093. Staal Ag/14681 werd reeds verstuurd in de EKE 2015/1 onder staalnummer Ag/12900.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

Ag/ 14680: Een 75 jarige patiënt, die regelmatig aan de Spaanse Costa del Sol verblijft wordt drie maanden na behandeling van een bewezen Legionella infectie opnieuw opgenomen met een beeld van malaise, koorts en kortademigheid.

Hemoculturen en een klassieke respiratoire cultuur zijn negatief.

Ag/ 14681: Een 25 jarige man, zonder klinische voorgeschiedenis, meldt zich begin januari aan bij de huisarts owv koorts en griepaal syndroom. Patiënt vermeldt dat hij regelmatig in buitenlandse hotels verblijft.

De deelnemers

104 klinische laboratoria hebben hun antwoorden ingevuld.

Daarnaast voerde ook één firmalaboratorium de testen uit. Het gebruikte de Legionella V-test (Coris Bioconcept) met voor beide stalen een correct resultaat.

Alle laboratoria voerden 1 test uit.

Gebruikte reagentia

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

Tabel 6.2.1 Reagentia gebruikt voor de bepaling van het Legionella antigen

Fabrikant	Reagens	Ag/14680	Ag/14681
Alere Health	Binax Now Legionella Urinary Ag test	95	95
Coris Bioconcept (verdelers International Medical)	Legionella K-Set	3	3
	Legionella V-test	1	1
IVD Research Inc. (verdelers Herman Diagnostics)	Legionella Urinary Antigen Lateral Flow	1	1
Meridian	Tru Legionella	3	3
Veda.Lab	Legio-Check-1	1	1
Totaal		104	104

Resultaten

Staal Ag/14680

103 laboratoria bekwamen een positief resultaat. Eén laboratorium bekwam een negatief resultaat en verstrekke hierbij volgende uitleg: “BinaxNOW Legionella positief op het verse staal. Na verwarming van de urine gedurende 5 minuten op 100°C, BinaxNOW Legionella negatief -> Vals positief (het bacteriële antigen is thermostabiel”.

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

Tabel 6.2.2 Klinische interpretaties voor staal Ag/14680 (Legionella antigen)

<i>Interpretatie</i>	<i>Nbre labo's</i>
Positief	84
Positief voor urinair Ag van Legionella pneumophila serogroep 1 ¹	2
Bijkomende testen zijn vereist	14
Positiviteit waarschijnlijk te wijten aan infectie van 3 maanden geleden ²	2
Persisterend antigen of re-infectie?	1
Negatief	1
Totaal	104

¹ Eén laboratorium raadt een bevestiging van de Legionella serologie na 1 maand aan.

² Eén van deze beide laboratoria vermeldt: “Enkel een negatief resultaat leert ons dat het geen acute Legionella infectie betreft” en dat er dus een andere oorzaak voor de symptomen gezocht moet worden.

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

Tabel 6.2.3 Bijkomende testen voor staal Ag/14680 (Legionella antigen)

<i>Bijkomende testen</i>	<i>Nbre labo's</i>
PCR op respiratoir staal ¹	6
PCR + cultuur op respiratoir staal ²	5
Cultuur op respiratoir staal ³	2
Controle urinestaal + PCR op respiratoir staal	1
Totaal	14

¹ Vijf laboratoria vermelden dat ze bijkomende testen aanvragen omdat langdurige antigenexcretie (tot 1 jaar) na een infectie mogelijk is.

² Drie laboratoria vermelden dat ze bijkomende testen aanvragen omdat langdurige antigenexcretie (tot 1 jaar) na een infectie mogelijk is.

³ Twee laboratoria vermelden dat ze bijkomende testen aanvragen omdat langdurige antigenexcretie (tot 1 jaar) na een infectie mogelijk is.

Meerdere laboratoria die de interpretatie “positief” gaven, gaven wel een opmerking in het “vrije tekst” veld:

- 4 laboratoria vermeldden dat de test enkel Legionella pneumophila serogroep 1 detecteert
- 9 laboratoria vermeldden dat een langdurige antigenexcretie (tot 1 jaar) na een infectie mogelijk is

- 1 laboratorium vermeldde dat in routine de analyse geweigerd zou worden omdat de patiënt gekend is
- 3 laboratoria vermeldden bijkomende testen aan te vragen (2 laboratoria: PCR op respiratoir staal; 1 laboratorium: PCR + cultuur op respiratoir staal)

Drie laboratoria vermeldden: “De aanvraag voor deze analyse is volledig conform diagnoseregule 104 en wordt bijgevolg uitgevoerd.”

Staal Ag/14681

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat.

De antwoorden voor de klinische interpretatie worden weergegeven in onderstaande tabel

Tabel 6.2.4 Klinische interpretaties voor staal Ag/14681 (Legionella antigen)

<i>Interpretatie</i>	<i>Nbre labo's</i>
Negatief	93
Bijkomende testen zijn vereist	8
Negatief voor urinair Ag van Legionella pneumophila serogroep 1 ¹	2
Te controleren tijdens de volgende dagen als positieve epidemiologie want de test kan negatief zijn de allereerste dagen. Uitsluiten van andere pathogenen, epidemiologische enquête, antigene en serologische follow-up controle via PCR want de antigenetest detecteert niet alle serotypes.	1
Totaal	104

¹ Eén laboratorium vermeldt dat bijkomend onderzoek van respiratoire secreties aangewezen is indien klinische verdenking op infectie met Legionella

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

Tabel 6.2.5 Bijkomende testen voor staal Ag/14681 (Legionella antigen)

<i>Bijkomende testen</i>	<i>Nbre labo's</i>
PCR op respiratoir staal	2
PCR + cultuur op respiratoir staal	2
Cultuur op respiratoir staal	2
Immunofluorescentie voor detectie van serotype 1-6: Legionella antigen test detecteert enkel serotype 1	1
Onderzoek op respiratoir staal	1
Totaal	8

Meerdere laboratoria die de interpretatie “negatief” gaven, gaven wel een opmerking in het “vrije tekst” veld:

- 6 laboratoria vermeldden dat de test enkel Legionella pneumophila serogroep 1 detecteert en dat daarom bijkomende testen nodig zijn (2 laboratoria: cultuur + PCR op respiratoir staal; 2 laboratoria: cultuur op respiratoir staal; 1 laboratorium: PCR op respiratoir staal; 1 laboratorium: onderzoek op respiratoir staal)

- 3 laboratoria vermeldden dat de test enkel Legionella pneumophila serogroep 1 detecteert
- 2 laboratoria vermeldden bijkomende testen aan te vragen (1 laboratorium: PCR op respiratoir staal; 1 laboratorium PCR + cultuur op respiratoir staal)
- 1 laboratorium vermeldde dat influenza moet uitgesloten worden
- 1 laboratorium vermeldde dat de test in routine verworpen zou worden omdat er geen klinische tekens zijn

Drie laboratoria vermeldden: “De aanvraag voor deze analyse is niet conform diagnoseregulering 104 en wordt in principe niet uitgevoerd. Op uitdrukkelijke vraag van de huisarts doen we dit wel mits aanrekenen van een forfaitair bedrag (buitennomenclatuurnummer) aan de patiënt.”

Uitstekende analytische resultaten werden bekomen voor deze Legionella antige-nenquête. Voor staal Ag/14680 bekwam één laboratorium een (foutief) negatief resultaat na verwarming van de urine gedurende 5 minuten op 100°C. Deze procedure is niet in de bijsluiting opgenomen van de door het laboratorium gebruikte kit (Binax Now). Het lab beroept zich echter op onderstaande referentie (1).

Legionella antige-n testen hebben een hoge specificiteit tussen 95 – 100% en lagere sensitiviteit tussen 70 – 90% voor invasieve infecties door Legionella pneumophila serogroep 1 (2). Bijkomende procedures zoals verwarmen en concentreren van urine zijn in de literatuur beschreven om respectievelijk de specificiteit en de sensitiviteit verder te verhogen maar spijtig genoeg gaat dit in omgekeerde zin vaak ten koste van respectievelijk de sensitiviteit en de specificiteit.

Verschillende laboratoria vermelden correct dat langdurige antige-n excretie (tot 1 jaar) na een infectie mogelijk is. In de meeste gevallen echter is Legionella antige-n niet meer detecteerbaar 2 maand na therapie.

Gezien de lage sensitiviteit en beperkte kruisreactiviteit met non-serogroep 1 Legionella pneumophila en andere Legionella species is het bij klinisch vermoeden van een Legionella infectie nooit een goed idee enkel op het resultaat van een urine antige-n test te betrouwen voor een correcte diagnose. Hoewel niet terugbetaald, worden moleculaire testen op een (diep) respiratoir staal ook in deze problematiek meer en meer beschouwd als gouden standaard. Legionella cultuur vraagt bijkomende expertise en is weinig sensitief. Door de late immunorespons is Legionella serologie vooral geschikt voor epidemiologische doeleinden.

Vier laboratoria merken op dat de klinische indicatie voor analyse van staal Ag/14681 niet conform de huidige Belgische nomenclatuur is. Legionella antige-n in urine wordt inderdaad enkel terugbetaald indien patiënt gehospitaliseerd, ouder dan 18 jaar, op voorschrift geneesheer-specialist en maximaal 1x per ziekenhuisverblijf (diagnoseregulering 104). Dit is gelet op de lage sensitiviteit van urine antige-n in niet invasieve Legionella infecties zoals Pontiac koorts en het uitzonderlijk karakter van invasieve Legionella infecties bij immunocompetente kinderen tenzij ze juist zijn geboren na een onderwaterbevalling (3) zeker te motiveren.

- (1) Pontoizeau C, et al. Ruling out False-Positive Urinary Legionella pneumophila Serogroup 1 and Streptococcus pneumoniae Antigen Test Results by Heating Urine. J Clin Microbiol. 2014 Dec; 52(12): 4347–4349.
- (2) Mercante J, Winchell J. Current and emerging Legionella diagnostics for laboratory and outbreak investigations. Clin Microbiol Rev. 2015 Jan; 28:80 –118.
- (3) Collins SL, et al. Heated birthing pools as a source of Legionnaires' disease. Epidemiol Infect. 2016 Mar;144(4):796-802.

EINDE

© Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid, Brussel 2017.
Dit rapport mag niet gereproduceerd, gepubliceerd of verdeeld worden zonder
akkoord van het WIV.