

EXPERTISE, DIENSTVERLENING
KWALITEIT VAN LABORATORIA

COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE
COMITE VAN EXPERTEN

EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE VOOR
ANALYSES KLINISCHE BIOLOGIE

**DEFINITIEF GLOBAAL RAPPORT
MICRO/SERO/PARA
ENQUETE 2020/2**

Microbiologie

Candida auris
Enterococcus faecium
Klebsiella pneumoniae
Niet pathogenen

Parasitologie

Trichuris trichiura
Afwezigheid van pathogenen

Serologie

Borrelia-serologie
Syfilis-serologie

Sciensano/Micro/Sero/Para/125-NL

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

www.sciensano.be

EXPERTENCOMITE

SCIENSANO					
Secretariaat		TEL:	02/642.55.22	FAX:	02/642.56.45
Dr. VERNELEN Kris	Enquêtecoördinator	TEL:	02/642.55.29		
		e-mail:	kris.vernelen@sciensano.be		
Dr. CHINA Bernard	Vervanger enquêtecoördinator	TEL:	02/642.53.85		
		e-mail:	bernard.china@sciensano.be		
Experten	Instelling				
Apr. BOEL An	OLVZ Aalst				
Dr. BOELENS Jerina	UZ Gent				
Dr. BOERAS Anca	CLINIQUE ST JOSEPH Liège				
Dr. CAMPS Kim	ZNA Antwerpen				
Dr. DE BEENHOUWER Hans	OLVZ Aalst				
Dr. DE GHELDRE Yves	CHIREC Bruxelles				
Dr. DELFORGE Marie-Luce	ULB ERASME Bruxelles				
Dr. DEPYPERE Melissa	UZ Leuven				
Dr. HUANG Te-Din Daniel	UCL Mont Godinne				
Dr. MEEUX Cécile	CHU Liège				
Dr. MAGERMAN Koen	JESSA ZIEKENHUIS Hasselt				
Dr. PADALKO Elizaveta	UZ Gent				
Dr. REYNDERS Marijke	AZ SINT JAN Brugge				
Dr TRE HARDY Marie	HOPITAUX IRIS SUD Etterbeek				
Dr. VAN ACKER Jos	AZ ST LUCAS Gent				
Dr. VAN DEN BOSSCHE Dorien	ITG Antwerpen				
Dr. VAN GASSE Natasja	ZNA Antwerpen				
Dr. VERROKEN Alexia	UCL Bruxelles				
Apr. VIJGEN Sara	JESSA ZIEKENHUIS Hasselt				

Een voorlopige versie van dit rapport werd voorgelegd aan de experts vanaf 28/07/2020.

Dit rapport werd besproken op de expertenvergaderingen van : 23/09/2020 (infectieuze serologie) en 28/09/2020 (microbiologie via Webex).

Autorisatie verspreiding rapport:

Door Kris Vernelen, enquêtecöördinator, op 19/02/2021



Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

[https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_ quality/rapports/ nl/rapports_ annee.htm](https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/ nl/rapports_ annee.htm)

Inhoudstafel

I. Algemene bemerkingen.....	5
II. Identificaties	6
2.1. Cultuur M/16985 <i>Candida auris</i>	6
2.2. Cultuur M/17016 <i>Enterococcus faecium</i>	7
2.3. Cultuur M/17125 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	9
2.4. Cultuur M/17196 <i>Niet pathogenen</i>	12
III. Resultaten van de identificaties	13
3.1. Cultuur M/16985 <i>Candida auris</i> (wisser wonde).....	13
3.2. Cultuur M/17016 <i>Enterococcus faecium</i> (hemocultuur).....	14
3.3. Cultuur M/17125 <i>Klebsiella pneumoniae</i> (hemocultuur).....	15
3.4. Cultuur M/17196 Niet pathogenen (keelwisser).....	16
3.5. Uitstrijkje voor Gramkleuring M/17157 (hemocultuur)	17
IV. Antibiogram.....	18
4.1. Cultuur M/17016 (<i>Enterococcus faecium</i>)	19
4.2. Cultuur M/17125 (<i>Klebsiella pneumoniae</i>)	23
V. PARASITOLOGIE.....	28
5.1. De monsters	28
5.2. Resultaten voor staal P/17257	29
5.3. Resultaten voor staal P/17258	30
5.4. Commentaar op de enquête	30
VI. Serologie.....	31
6.1. Borrelia	31
6.1.1. Informatie betreffende de verstuurde stalen	31
6.1.2. De deelnemers.....	31
6.1.3. Gebruikte reagentia.....	32
6.1.4. Resultaten.....	34
6.1.4.1. Staal S/7273	34
6.1.4.2. Staal IS/16931	39
6.1.5. Antwoord op de vraag of er CSV en serum van deze patiënt opgestuurd wordt voor opsporen van neuroborreliose	41
6.1.6. Commentaar op de enquête.....	41
6.2. Syfilis.....	43
6.2.1. De stalen.....	43
6.2.2. De deelnemers.....	43
6.2.3. Gebruikte reagentia.....	45
6.2.4. Resultaten.....	46
6.2.4.1. Staal IS/16577	46
6.2.4.2. Staal IS/17078, onpare laboratoria	48
6.2.4.3. Staal IS/17078, pare laboratoria	49
6.2.5. Welke test voert het laboratorium als 1 ^e uit bij screening.....	50
6.2.6. Commentaar op de resultaten van het onderzoek.....	50

I. Algemene bemerkingen

Voor de 2^e evaluatie van het jaar 2020 (enquête 2020/2) werd volgend materiaal verzonden op 6 juli 2020 (de enquête werd op een latere datum verstuurd dan de oorspronkelijk voorziene (20/04/2020) omwille van de coronacrisis).

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

Voor 2 monsters werden de resultaten van de gevoeligheidstesten gevraagd.

1.2. Twee fecesstalen voor parasitologisch onderzoek.

1.3. Twee plasmamonsters voor de bepaling van de **Borrelia-serologie** en 2 **plasmamonsters** voor de bepaling van het **syfilisserologie**.

AANTAL DEELNEMERS

Het aantal evalueerbare antwoordbulletins bedroeg:

1.	Voor identificatie en antibiogram:	129
2.	Voor parasitologie:	121
3.	Voor de serologie:	
	Borrelia:	110
	Syfilis:	132

Alle stalen gebruikt in de EKE zijn voorafgaandelijk goedgekeurd door de leden van de onderscheiden expertencomités, waarbij ook de homogeniteit bewezen werd. De stabiliteit volgt uit de resultaten van de laboratoria.

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 "Verstuurde stalen" op "Overzicht verstuurde kiemen"

Parasitologie:

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

en vervolgens klikt u onder "Verstuurde stalen" op "Overzicht verstuurde parasieten"

Infectieuze serologie:

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

en vervolgens klikt u onder "Verstuurde stalen" op "Lijst van de geëvalueerde parameters"

II. Identificaties

2.1. Cultuur M/16985 *Candida auris*

De bijkomende klinische inlichtingen dat het een wondwisser betrof van een patiënt die twee weken gehospitaliseerd werd op een intensieve zorgen afdeling van een Spaans ziekenhuis was een aanwijzing dat er een verhoogde kans was om *Candida auris* te detecteren. In Spanje werden verschillende grote uitbraken met deze gist gerapporteerd. In het definitief globaal rapport van de enquête 2018/2 wordt uitgebreid ingegaan op de epidemiologie, identificatie en antifungale resistentie van deze gist alsook de ziekenhuis-hygiënische aspecten. *C. auris* vertoont een ongewoon vermogen tot persistentie in de omgeving en in asymptomatische patiënten wat bijgedragen heeft tot uitbraken in verschillende ziekenhuizen. Daarenboven is deze gist potentieel multiresistent. Adequate isolatiemaatregelen zijn belangrijk voor bevestigde klinische gevallen.

Tot nu toe werd in België bij 4 patiënten *Candida auris* geïsoleerd, bij drie patiënten was dit tijdens de tweede helft van 2019. Telkens betrof het patiënten die omwille van een complexe medische problematiek rechtstreeks vanuit een buitenlands ziekenhuis (2 x Koeweit, 1 x Zuid-Afrika en 1 x India) naar een Belgisch ziekenhuis werden getransfereerd. De gist werd in de verschillende betrokken laboratoria snel geïdentificeerd en preventieve maatregelen werden ingesteld zodat dit nooit tot een lokale uitbraak heeft geleid. 91.5% van de laboratoria rapporteerden een correct resultaat in deze enquête. Dit is een veel beter resultaat dan in 2018 (59% correcte identificaties) wat ongetwijfeld te wijten is aan de uitbreiding van de databases van de meest frequent gebruikte identificatiemethoden voor gisten (MALDI-TOF MS en Vitek 2 systemen). Dit ondersteunt het belang van het tijdig uitvoeren van software updates zodra beschikbaar. Drie laboratoria antwoordden een foutief *Candida* species na analyse met API systeem of Vitek 2 (compact). 8 laboratoria antwoordden enkel op genus-niveau of 'gisten'. Al deze laboratoria gebruiken klassieke methoden, API of Vitek 2 (compact). 6 van deze laboratoria gaven aan dat ze in routine deze stam zouden doorsturen voor verdere identificatie. Hierbij kan kritisch de vraag gesteld worden of dit in routine ook effectief gebeurt voor alle gisten die gekweekt worden en wat de turn around time is voor het rapporteren van de identificatie van deze opgestuurde stammen. Het correct kunnen identificeren van *Candida* species is essentieel voor therapeutische beslissingen maar in geval van *C. auris* ook voor het instellen van correcte infectiecontrole maatregelen. 41 laboratoria antwoordden dat ze deze stam niet zouden doorsturen. Op de website van de Nationale Referentiecentra (NRC, https://nrchm.wiv-isp.be/nl/ref_centra_lab/mycosis/default.aspx) wordt expliciet gevraagd om alle *C. auris* stammen naar het NRC voor mycosen door te sturen. Hieronder worden de aanbevelingen van de Belgische Risk Assessment Group en het Nationaal Referentie Centrum nog eens opgesomd:

- **Identificeer gisten uit normaal steriele stalen steeds op species niveau.** Bij identificatieproblemen kunnen isolaten opgestuurd worden naar het Nationaal Referentiecentrum voor Mycosen (UZ Leuven of CHULiège).
- **Stuur alle gisten die geïdentificeerd werden als *Candida auris* naar het NRC** voor bevestiging van identificatie en gevoeligheidsbepaling.
- **Stuur alle gisten die geïdentificeerd werden als *Candida haemulonii* of *Candida pseudohaemulonii* naar het NRC.**
- **Stuur alle gisten die resistent zijn aan fluconazole** (met uitzondering van *Candida glabrata* en *Candida krusei*) **naar het NRC.**
- Ziekenhuizen die te maken hebben met een uitbraak van *C. auris* (d.i. twee of meer gevallen met een potentiële link in tijd, plaats, of persoon) worden gevraagd het Outbreak Support Team (OST) te betrekken. Contact kan opgenomen worden via de regionale teams infectieziektenbestrijding.

Katrien Lagrou UZ Leuven

2.2. Cultuur M/17016 *Enterococcus faecium*

Vancomycine resistente enterokokken (VRE) werden voor het eerst geïsoleerd in 1986 in Frankrijk en het Verenigd Koninkrijk. Sindsdien is de detectiefrequentie toegenomen en zijn ze een oorzaak van nosocomiale infecties. De Wereld Gezondheidsorganisatie (WHO) heeft vancomycine resistente *E. faecium* (VREfm) hoog opgelijst in het globale overzicht van antibiotica resistente bacteriën met een hoge prioriteit (World Health Organization. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Geneva: WHO; 2017.).

Het meest recente EARS rapport meldt dat in 2018 het in de EU/EAA populatiegewogen gemiddelde percentage invasieve VREfm 17.3% was, een significante stijging ten opzichte van 2015 met een toenmalig percentage van 10.5%. Verschillende landen met vergelijkbare hoge VRE-levels rapporteren hierbij ook een significante stijging gedurende de laatste 4 jaar. België vertoonde een toename van invasieve VREfm van 0.6% in 2015 tot 5.5% in 2017, gevolgd door een daling naar 1.8% in 2018 (European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. Stockholm: ECDC; 2019.).

In Noord-Europa, inclusief België, circuleert reeds enkele jaren een *vanB* positieve ST117 *E. faecium* cloon met een MIC voor vancomycine rond het breekpunt (4 µg/ml of lager met de MIC gradiënt-test). In 2017, 2018 en 2019 ontving het NRC respectievelijk 298, 362 en 280 VREfm stammen, waarvan er respectievelijk 194, 258 en 178 positief waren voor *vanA*. In 2018 werd ook nog 1 *vanA/vanB* VREfm stam ontvangen evenals 1 *vanD* VREfm en 1 *vanG* VREfm. Respectievelijk 47, 73 en 99 stammen werden positief bevonden voor *vanB*. Voor 22/47, 48/73 stammen werd een MIC-waarde variërend tussen 16 en >256 µg/ml vastgesteld. 25/47 en 25/73 hadden een MIC voor vancomycine die rond het breekpunt lag. Voor Belgische stammen geïsoleerd in 2019 zijn geen MIC-waardes gekend vermits het NRC deze analyses niet meer standaard uitvoert.

EUCAST heeft een gewijzigde waarschuwing geplaatst in mei 2019 om deze resistentie beter te kunnen detecteren in *E. faecium* en *E. faecalis* stammen door middel van MIC-gradiënt testen

(https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Warnings/Warnings_docs/Warning_-_glycopeptide_gradient_tests_in_Enterococci.pdf). In dit document wordt het gebruik van BHI-medium, een hoger inoculum (2 McFarland) en een incubatietijd van 48u aanbevolen. Bij twijfel of bij discordante resultaten bekomen met 2 of meer methodes moet een PCR voor de detectie van *vanA* en *vanB* -genen uitgevoerd worden (door het eigen labo of in het NRC). Bijkomend is het volgens de EUCAST expert rules v3.2 aanbevolen om *vanB* positieve enterokokken die fenotypisch gevoelig lijken voor vancomycine als resistent te rapporteren (<http://www.eucast.org/documents/consultations/>).

EUCAST en CLSI gebruiken een verschillende lading voor disk diffusie voor vancomycine, 5µg (diameter <12 mm = R) en 30 µg (diameter ≤14 mm = R) respectievelijk. De interpretatie van S/I/R voor vancomycine aan de hand van een MIC-bepaling verschilt ook tussen beide normen: ≤ 4µg/ml en >4µg/ml worden respectievelijk geïnterpreteerd als gevoelig en resistent volgens EUCAST. Volgens CLSI moet een MIC van ≤ 4µg/ml, 8 µg/ml-16 µg/ml en ≥32 µg/ml als respectievelijk gevoelig, intermediair en resistent beschouwd worden. Er wordt volgens beide normen gewerkt in Belgische laboratoria, maar het aantal laboratoria dat nog volgens CLSI werkt is te laag om conclusies te kunnen trekken in verband met het correct vaststellen van vancomycine resistentie.

Er worden verschillende methodes gebruikt om de glycopeptide gevoeligheidsbepaling uit te voeren en af te lezen. Ook hier geldt dat voor sommige methodes er te weinig gebruikers zijn om toe te laten om tekortkomingen in de correcte gevoeligheidsbepaling vast te stellen.

Een hoge prevalentie van multiresistente enterokokken blijft een serieuze uitdaging voor de controle van infecties en een belangrijke oorzaak van healthcare geassocieerde infecties in

België en Europa. Bijkomend zijn infecties veroorzaakt door multiresistente stammen moeilijk te behandelen en verspreiden ze zich gemakkelijk in zorginstellingen. Aanbevelingen inzake preventie, beheersing en aanpak van patiënten die VRE drager zijn, zijn te vinden in het rapport van de Hoge Gezondheidsraad nr. 9277, versie april 2019 zoals eerder vermeld in het rapport van *E. faecalis vanB M/16351* (2019).

Algemeen besluit:

95.4% van de deelnemers heeft de stam correct tot op species niveau geïdentificeerd. Daarnaast identificeerden 120/123 (97.6%) laboratoria correct de vancomycine resistentie bij deze stam wat een verbetering is ten opzichte van stam *E. faecalis vanB M/16351* (MIC 8 mg/L) verzonden in 2019 toen slechts 85.9% van de laboratoria een correct resultaat behaalde.

Twee laboratoria (gebruikers van gradiënt MIC methoden) meldden een intermediaire gevoeligheid met een MIC van respectievelijk 16 mg/L en 24 mg/L en 1 laboratorium (gebruiker van papieren schijfjes) rapporteerde de stam als vancomycine gevoelig. Allen werkten volgens CLSI criteria. Indien de gebruikers van de gradiënt microdilutiemethodes volgens de EUCAST norm gewerkt zouden hebben dan zou dit resultaat correct als R gerapporteerd worden zijn. Het inzetten van een PCR voor de detectie van *vanA* en *vanB* bij stammen met een MIC rond het breekpunt zal vancomycine resistentie correct helpen identificeren.

Bijkomend waren de resultaten van de gevoeligheidsbepalingen voor ampicilline, highlevel gentamicine, teicoplanine en linezolide allen correct.

Katherine Loens, UZ Antwerpen

2.3. Cultuur M/17125 *Klebsiella pneumoniae*

Het betreft een *Klebsiella pneumoniae* stam die een hypervirulent karakter vertoont. De klassieke *K. pneumoniae* (cKP) is vooral gekend als veroorzaker van nosocomiale infecties als pneumonieën, septicemieën, infecties van de urinewegen en intra-abdominale of wondinfecties. In het midden van de jaren 1980, is een nieuwe hypervirulente variant van *K. pneumoniae* (hvKP) verschenen die een invasief syndroom met pyogeen leverabces veroorzaakt met neiging tot metastatische complicaties zoals meningitis, endoftalmie, necrotiserende fasciitis of andere extrahepatische infecties (1, 2). Deze hvKP stammen hebben de mogelijkheid om een mogelijk letale infectie te veroorzaken bij jonge en niet immuungedeprimeerde personen, zelfs al kan diabetes voorbeschikken tot ernstige complicaties (3, 4). Deze specifieke *K. pneumoniae* werd voor het eerst beschreven in Taiwan (5) en wordt om een onbekende reden voornamelijk in Zuidoost Azië teruggevonden (waarschijnlijk een genetische voorbeschiktheid van de gastheer) (1, 3). Momenteel wordt de hvKP wereldwijd bij diverse etnische groepen gerapporteerd (6, 7). De wijze waarop hvKp zich verspreidt in de gemeenschap is momenteel niet goed gekend, hoewel inname van voedsel en interpersoonlijke en zelfs zoönotische transmissie aangehaald worden. Het percentage hvKP onder de *K. pneumoniae* isolaten is zeer variabel en afhankelijk van de selectiecriteria (van 0 tot 50% in sommige Aziatische hemocultuurcollecties), maar lijkt toe te nemen in afwezigheid van een systematisch surveillanceprogramma voor hvKP (8, 9).

hvKP onderscheidt zich meestal van cKP door een hyperproductie van het capsulaire polysaccharide wat leidt tot een hypermucoïd fenotype. Het bacteriële kapsel omvat K antigenen en leidt tot resistentie tegen fagocytose door de neutrofielen en biedt bescherming tegen het bactericide serumcomplement. Deze resistentiecapaciteiten laten *K. pneumoniae* toe om de lever te bereiken en een primair abces te veroorzaken (10). Er bestaan minstens 77 verschillende capsulaire serotypes van het K-antigen en de meerderheid van de invasieve stammen behoort tot het capsulaire serotype K1 of K2. Twee genen die betrokken zijn bij de capsulaire synthese worden als majeure virulentiefactoren beschouwd: het chromosomale *magA* dat specifiek is voor de K1 genen en het plasmidaire *rmpA*, een transcriptionele activator voor de synthese van extracapsulaire polysacchariden die onafhankelijk is van het capsulair serotype zelfs al wordt hij frequenter terug gevonden bij de K1 en K2 (11).

Een ander invasief vermogen van de hvKP is de belangrijke secretie van sideroforen, ijzerchelatoren met een hoge affiniteit, die essentieel zijn voor de groei en het overleven van bacteriën. *K. pneumoniae* kunnen 4 types sideroforen produceren waaronder aerobactine (gecodeerd door het operon *iuc*) specifiek voor hvKP. Dit is kwantitatief het belangrijkste van de sideroforen en schijnt de determinerende factor te zijn voor de toegenomen overleving van deze stammen en leidt tot een systemische verspreiding van de infectie (12).

Recente moleculaire Whole Genome Sequencing (WGS) studies hebben verschillende genetische kenmerken aangetoond evenals de complexiteit van de virulentiefactoren van hvKP stammen. De plasmiden pLVPK (219 kb) en pK2044 (220 kb) worden in grote mate aangetroffen bij de invasieve stammen van het klonaal complex 23 van *K. pneumoniae* (CC23) dat geassocieerd is met het capsulaire serotype K1. Verschillende genetische loci werden geïdentificeerd op deze plasmiden en ze worden gebruikt voor de detectie van plasmiden die afgeleid zijn van pLVPK met specifieke primers die focussen op *iutA* (réceptor voor de aerobactine-ijzer complexen), *terW* (resistentie tegen telluriet), *silS* (resistentie tegen zilver) en *rmpA* (13, 14).

De diagnose van een hvKP infectie berust op de combinatie van een klinisch vermoeden en het microbiologisch onderscheid van de karakteristieken van hvKP in vergelijking met cKP. De klinische definitie omvat een invasieve community-acquired infectie (met of zonder bacteriëmie) van diepe sites (meestal multisite) bij een meestal jonge patiënt die geen comorbiditeit vertoont. De kweek van een *K. pneumoniae* stam die een hypermucoïd fenotype vertoont, gekenmerkt door een positieve « string test » (vorming van een viskeuze draad >5 mm wanneer met een entoog een kolonie van de bodem afgenomen wordt) is zeer suggestief maar heeft onvolledige gevoeligheid (90%) en specificiteit (90%). De dosering van biomarkers die de hypersecretie van sideroforen weergeven, heeft een hoge voorspellende waarde voor

de aanwezigheid van hvKP, maar deze artisanale methoden dienen nog op punt gesteld en gestandaardiseerd te worden vooraleer ze in de klinische laboratoria gebruikt kunnen worden. De moleculaire definitie van hvKP blijft momenteel moeilijk en complex (15). De bepaling van capsulaire serotypes (K-antigenen) en virulentiegenen met moleculaire methoden (multiplex PCR of WGS) biedt de beste karakterisering van hvKP stammen (hoewel deze onvolledig blijven) (16). De bepaling van het Sequence type (ST) of het klonaal complex (CC) laat toe sommige stammen te identificeren (bijvoorbeeld K1-CC23), maar niet systematisch. Bovendien werd beschreven dat de plasmiden die de virulentiegenen dragen, verworven kunnen worden door cKP met inbegrip van multiresistente stammen (e.g. ST11 KPC) die zelfs nosocomiale epidemieën kunnen veroorzaken (17, 18).

De differentiatie tussen hvKp en cKp kan een belangrijke impact hebben op de zorg voor de geïnfecteerde patiënten. Identificatie van hvKp laat toe om sneller niet gekende infectiehaarden te behandelen (vaak “verborgen” abscessen). Deze infectiehaarden vereisen vaak drainage (soms chirurgisch en meervoudig), langdurige antibiotica-therapie die eventueel focust op adequate penetratie naar de infectiehaard (meningitis, endoftalmie...). De hyperviscositeit van de hvKp zou de clinicus kunnen aansporen om een percutane drainage katheter met een grotere diameter te gebruiken om obstructie te vermijden. Het frequente hervallen van hvKP infecties suggereert de noodzaak om langdurige therapie in te stellen om de genezingspercentages te maximaliseren (19, 20).

Wat de transmissie betreft : nauwe contacten met geïnfecteerde personen kunnen leiden tot kolonisatie die dan weer een infectie met hvKp tot gevolg kan hebben (21). Nosocomiale epidemieën zijn beschreven (18). Het nut van een profylactische behandeling van gekoloniseerde personen is momenteel onbekend en de standaard hygiënische maatregelen (gelijkaardig aan deze voor multiresistente GNB) blijken gepast te zijn ondanks de afwezigheid van specifieke aanbevelingen voor overdrachtspreventie van hvKP.

De *K. pneumoniae* M/17125 stam die in deze EKE verstuurd werd is een hvKP van het capsulaire serotype K2 die drager is van de geassocieerde virulentiegenen waaronder *iutA*, *iuc*, *iro* (synthese van salmocheline) en *mpaA*. Enkele laboratoria hebben vermeld dat ze de stam in routine naar het referentiecentrum (NRC) zouden versturen voor opsporen van een hvKP. Een retrospectieve analyse van de isolaten die wegens klinisch vermoeden (75% leverabscessen) van hvKP in het Belgische NRC ontvangen werden tussen 2014 e 2019 en afkomstig waren van 9 ziekenhuizen bevestigde dat 20 stammen hvKP waren met een predominantie van de capsulaire serotypes K2 (60%) en K1 (35%) (RICAI 2019, P-100). Laboratoria kunnen stammen voor opsporing van hvKP naar het NRC voor antibioticaresistente GNB sturen door gebruik te maken van het specifieke aanvraagformulier voor hvKP dat beschikbaar is op de website van de NRC. Het NRC karakteriseert de capsulaire serotypes en virulentiegenen met moleculaire methoden (PCR en/of WGS). Het verzamelen van de stammen is nuttig voor de epidemiologie van hvKP, maar een gestructureerde clinico-biologische surveillance-enquête zal nodig zijn om de frequentie van hvKP infecties in België te bepalen.

Te-Din Daniel Huang

Olivier Denis

CNR des BGN antibio-résistants

Références :

1. Wang JH, Liu YC, Lee SS, Yen MY, Chen YS, Wang JH, et al. Primary liver abscess due to *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan. *Clin Infect Dis*. 1998;26(6):1434-8.
2. Shon AS, Bajwa RP, Russo TA. Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: a new and dangerous breed. *Virulence*. 2013;4(2):107-18.

3. Ko WC, Paterson DL, Sagnimeni AJ, Hansen DS, Von Gottberg A, Mohapatra S, et al. Community-acquired *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: global differences in clinical patterns. *Emerg Infect Dis*. 2002;8(2):160-6.
4. Lin YT, Wang FD, Wu PF, Fung CP. *Klebsiella pneumoniae* liver abscess in diabetic patients: association of glycemic control with the clinical characteristics. *BMC infectious diseases*. 2013;13:56.
5. Liu YC, Cheng DL, Lin CL. *Klebsiella pneumoniae* liver abscess associated with septic endophthalmitis. *Archives of internal medicine*. 1986;146(10):1913-6.
6. Turton JF, Englender H, Gabriel SN, Turton SE, Kaufmann ME, Pitt TL. Genetically similar isolates of *Klebsiella pneumoniae* serotype K1 causing liver abscesses in three continents. *J Med Microbiol*. 2007;56(Pt 5):593-7.
7. Pomakova DK, Hsiao CB, Beanan JM, Olson R, MacDonald U, Keynan Y, et al. Clinical and phenotypic differences between classic and hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: an emerging and under-recognized pathogenic variant. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012;31(6):981-9.
8. Russo TA, Marr CM. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Microbiol Rev*. 2019;32(3).
9. Li W, Sun G, Yu Y, Li N, Chen M, Jin R, et al. Increasing occurrence of antimicrobial-resistant hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae* isolates in China. *Clin Infect Dis*. 2014;58(2):225-32.
10. Fang CT, Chuang YP, Shun CT, Chang SC, Wang JT. A novel virulence gene in *Klebsiella pneumoniae* strains causing primary liver abscess and septic metastatic complications. *J Exp Med*. 2004;199(5):697-705.
11. Siu LK, Yeh KM, Lin JC, Fung CP, Chang FY. *Klebsiella pneumoniae* liver abscess: a new invasive syndrome. *Lancet Infect Dis*. 2012;12(11):881-7.
12. Russo TA, Olson R, Macdonald U, Metzger D, Maltese LM, Drake EJ, et al. Aerobactin mediates virulence and accounts for increased siderophore production under iron-limiting conditions by hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Immun*. 2014;82(6):2356-67.
13. Tang HL, Chiang MK, Liou WJ, Chen YT, Peng HL, Chiou CS, et al. Correlation between *Klebsiella pneumoniae* carrying pLVPK-derived loci and abscess formation. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2010;29(6):689-98.
14. Lam MMC, Wyres KL, Duchene S, Wick RR, Judd LM, Gan YH, et al. Population genomics of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* clonal-group 23 reveals early emergence and rapid global dissemination. *Nature communications*. 2018;9(1):2703.
15. Russo TA, Olson R, Fang CT, Stoesser N, Miller M, MacDonald U, et al. Identification of Biomarkers for Differentiation of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from Classical *K. pneumoniae*. *J Clin Microbiol*. 2018;56(9).
16. Turton JF, Perry C, Elgohari S, Hampton CV. PCR characterization and typing of *Klebsiella pneumoniae* using capsular type-specific, variable number tandem repeat and virulence gene targets. *J Med Microbiol*. 2010;59(Pt 5):541-7.
17. Huang YH, Chou SH, Liang SW, Ni CE, Lin YT, Huang YW, et al. Emergence of an XDR and carbapenemase-producing hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strain in Taiwan. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73(8):2039-46.
18. Gu D, Dong N, Zheng Z, Lin D, Huang M, Wang L, et al. A fatal outbreak of ST11 carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese hospital: a molecular epidemiological study. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(1):37-46.
19. Patel PK, Russo TA, Karchmer AW. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Open Forum Infect Dis*. 2014;1(1):ofu028.
20. Fierer J, Walls L, Chu P. Recurring *Klebsiella pneumoniae* pyogenic liver abscesses in a resident of San Diego, California, due to a K1 strain carrying the virulence plasmid. *J Clin Microbiol*. 2011;49(12):4371-3.
21. Harada S, Tateda K, Mitsui H, Hattori Y, Okubo M, Kimura S, et al. Familial spread of a virulent clone of *Klebsiella pneumoniae* causing primary liver abscess. *J Clin Microbiol*. 2011;49(6):2354-6.

2.4. Cultuur M/17196 Niet pathogenen

Het betrof een keelwisser afgenomen in het kader van een respiratoire infectie bij een 22-jarige man. Het enige aanvaardbare antwoord, dat door 81% van de laboratoria gegeven werd, was afwezigheid van pathogenen.

De rondgestuurde stam was een *E. coli* die in geen enkel geval als pathogeen beschouwd kan worden in de klinische context die bij de stam vermeld werd. Nochtans hebben 15% van de laboratoria de aanwezigheid van *E. coli* gerapporteerd.

Y. De Gheldre, CHIREC, site Delta, Bruxelles

III. Resultaten van de identificaties

131 laboratoria hebben een antwoord ingevuld. Naast 129 Belgische en Luxemburgse klinische laboratoria waren dit 1 buitenlands en 1 firmalaboratorium. Deze beide laatsten werden niet in de verwerking der resultaten opgenomen.

Hoewel in de Toolkit de mogelijkheid voorzien is om “uitbesteed” 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 te identificeren** (en het eventuele antibiogram uit te voeren): **in vele gevallen betreft het hier immers kiemen die ook in andere afnames kunnen voorkomen.**

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

De correcte of aanvaardbare resultaten zijn onderlijnd.

3.1. Cultuur M/16985 *Candida auris* (wisser wonde)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: “De patiënt, een man van 35 jaar, was gedurende twee weken gehospitaliseerd op een intensieve zorgen afdeling van een Spaans ziekenhuis omwille van polytrauma na een auto-ongeval voordat hij naar een Belgisch ziekenhuis werd gerepatriëerd. Deze stam werd gekweekt uit een wisser genomen ter hoogte van een wonde aan de schouder.

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>Candida auris</i></u>	118	91.5%
<i>Candida non-albicans</i>	2	
<u><i>Candida species</i>¹</u>	2	1.6%
<i>Candida tropicalis</i>	1	
<i>Cryptococcus species</i>	2	
<u>Gisten</u> ¹	4	3.1%

¹ Deze 6 laboratoria zouden in routine de stam doorsturen voor verdere identificatie.

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 + andere niet-gepreciseerde reden	1
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram ¹	39
Epidemiologische redenen	30
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram ²	18
Wordt niet doorgestuurd	41
Totaal	129

¹ Eén laboratorium vermeldde dat het de confirmatie van het antibiogram betreft.

² Eén laboratorium vermeldde dat het de confirmatie van het antibiogram betreft.

Op de vraag naar het belang van de kiem, antwoordden 78 laboratoria dat de kiem zowel een epidemiologisch belang als een belang vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt heeft. 9 laboratoria antwoordden dat de kiem een epidemiologisch belang heeft en 13 laboratoria dat de kiem een belang heeft vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt.

3.2. Cultuur M/17016 *Enterococcus faecium* (hemocultuur)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Een 58-jarige man wordt opgenomen in het ziekenhuis met symptomen van endocarditis. Eén dag na afname zijn de 3 sets van hemoculturen positief.

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>Enterococcus faecium</i>	123	95.4%
<i>Enterococcus</i> species	1	
<i>Streptococcus faecium</i>	4	
Uitbesteed	1	

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 + andere niet-gepreciseerde reden	1
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram ¹	43
Epidemiologische redenen + andere niet-gepreciseerde reden	3
Epidemiologische redenen	23
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram ²	28
Uitbesteed	1
Andere niet-gepreciseerde reden	1
Wordt niet doorgestuurd	29
Totaal	129

¹ Zeven laboratoria vermeldden dat het de confirmatie van het antibiogram betreft. Zes hiervan preciseren dat het om het opsporen of de bevestiging van de resistentiegenen gaat.

² Vier laboratoria vermeldden dat het de confirmatie van het antibiogram betreft. Twee hiervan preciseren dat het om het opsporen of de bevestiging van de resistentiegenen gaat.

Op de vraag naar het belang van de kiem, antwoordden 85 laboratoria dat de kiem zowel een epidemiologisch belang als een belang vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt heeft. 7 laboratoria antwoordden dat de kiem een epidemiologisch belang heeft en 23 laboratoria dat de kiem een belang heeft vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt.

3.3. Cultuur M/17125 *Klebsiella pneumoniae* (hemocultuur)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Stam afkomstig uit een hemocultuur bij een 60-jarige patiënt gehospitaliseerd wegens een cholecystitis gecompliceerd door een leverabces.

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

<u><i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae</i></u>	19	14.7%
<u><i>Klebsiella pneumoniae</i></u>	107	82.9%
<u><i>Klebsiella pneumoniae/variicola</i></u>	1	0.8%
<u><i>Klebsiella pneumoniae</i> + <i>Streptococcus faecium</i></u>	1	0.8%
Uitbested	1	

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 + opsporen hypervirulente <i>K. pneumoniae</i>	1
Opsporen hypervirulente <i>K. pneumoniae</i>	2
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram	1
Epidemiologische redenen	1
Uitbested	1
Wordt niet doorgestuurd	122
Totaal	135

Op de vraag naar het belang van de kiem, antwoordden 5 laboratoria dat de kiem zowel een epidemiologisch belang als een belang vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt heeft en 6 laboratoria antwoordden dat de kiem een epidemiologisch belang heeft.

3.4. Cultuur M/17196 Niet pathogenen (keelwisser)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: “Een 22-jarige man contacteert zijn huisarts omwille van tekens van een respiratoire infectie (hoesten, niezen, koorts). Het rechtstreeks microscopisch onderzoek toont de aanwezigheid van bacteriën (++) en epitheelcellen maar geen ettercellen. De test op het coronavirus is negatief.

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>	83	64.3%
<u>Aanwezigheid van commensalen</u>	10	7.8%
<i>Escherichia coli</i>	31	
Geen groei	3	
Uitbesteed	1	
Geen besluit over identificatie	1	

Twaalf laboratoria die *E. coli* antwoordden, vermelden in een opmerking dat deze kiem niet als een pathogeen beschouwd dient te worden.

Twintig laboratoria die aanwezigheid van commensalen/afwezigheid van pathogenen antwoordden, vermeldden in een opmerking dat er wel een *E. coli* aanwezig is (die echter niet pathogeen is).

Op uitzondering van het laboratorium dat dit type staal uitbesteed, zou geen enkel laboratorium het staal in routine doorsturen.

Eén enkel laboratorium (dat *E. coli* antwoordde) vermeldde dat de stam een epidemiologisch belang heeft.

3.5. Uitstrijkje voor Gramkleuring M/17157 (hemocultuur)

Het betrof gisten (*Candida glabrata*).

125 laboratoria hebben een antwoord gegeven: ze hebben allen de gisten teruggevonden.

IV. Antibiogram

Een algemeen overzicht van de resultaten wordt gegeven bij het begin van de bespreking. In de verdere verwerking worden de resultaten geanalyseerd naargelang de methode. 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 antibiogram werd opgesteld op basis van de resultaten van de verschillende experts en van de respectievelijke referentiecentra.

Op staal M/17016 voerden 6 laboratoria geen antibiogram uit: het laboratorium dat het staal uitbesteedt, één laboratorium dat vermeldde geen antibiogram uit te voeren op enterokokken en 4 laboratoria die de reden niet vermeldden waarom ze geen antibiogram uitvoerden. Op staal M/17125 voerden 4 laboratoria geen antibiogram uit: het laboratorium dat het staal uitbesteedt en 3 laboratoria die de reden niet vermeldden waarom ze geen antibiogram uitvoerden.

4.1. Cultuur M/17016 (*Enterococcus faecium*)

Deze stam was drager van het *vanB* gen. 22 laboratoria hebben (het vermoeden van) dit gen vermeld, al dan niet met de vermelding dat doorstuur naar het referentiecentrum noodzakelijk is. 19 laboratoria hebben (het vermoeden van) een VRE vermeld, al dan niet met de vermelding dat doorstuur naar het referentiecentrum noodzakelijk is.

19 laboratoria hebben expliciet de high level gentamicine-resistentie vermeld

Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid met meer dan 1 methode; meestal kwamen deze resultaten overeen; enkel voor vancomycine was dit niet het geval voor één laboratorium: er werd in onderstaande tabel geopteerd het meest resistente resultaat te vermelden.

Tabel 4.1.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/17016 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	Niet in routine
Ampicilline	R	123	-	-	123	3
Gentamicine	R ¹	102	-	-	102	22
Vancomycine	R	123	1	2	120	4
Teicoplanine	S	108	108	-	-	34
Linezolide	S	112	112	-	-	30

¹ De term "R" voor gentamicine betekent "high level gentamicine resistentie".

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 en de diameters bekomen door de laboratoria die de papieren schijfjes gebruiken, vindt u in onderstaande tabel. Laboratoria die de gebruikte lading niet vermelden of een verkeerde lading gebruiken werden niet in deze tabel opgenomen.

Tabel 4.1.2. Resultaten bekomen met de papieren schijfjes voor staal M/17016 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline ¹	(28)	1	19	19 – 20	-	-	28
	22	2 ²	6	5 – 7	-	-	22
	4	10	6	6 – 7	-	-	4
Gentamicine ³	(25)	-	-	-	-	-	25
	3	10 ⁴	6	6 – 7	-	-	3
	19	30	6	5 – 7	-	-	19
	2	120	6	6 – 6	-	-	2
Vancomycine ⁵	(25)	-	-	-	2	-	23
	21	5	9	6 – 12	-	-	21
	4	30	16.5	14 – 17	2	-	2
Teicoplanine	12 (12)	30	19	17 – 23	12	-	-
Linezolide ⁶	(16)	-	-	-	16	-	-
	13	10	24	20 – 30	10	-	-
	3	30	26	25 – 26	3	-	-

¹ Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt: 2 µg door laboratoria die de EUCAST- of SFM-richtlijnen volgen en 10 µg door laboratoria die het gebruik van de CLSI-richtlijnen of van EUCAST vermeld hebben. Daarnaast vermeldde één labo een lading van 20 µg (CLSI-richtlijnen).

² Eén laboratorium vermeldde een diameter <6 mm.

³ Er werden 3 verschillende ladingen gebruikt: 10 µg door laboratoria die het gebruik van de CLSI-richtlijnen of van EUCAST vermeld hebben, 30 µg door laboratoria die de EUCAST- of SFM-richtlijnen volgen en 120 µg door laboratoria die de CLSI-richtlijnen volgen.

⁴ Eén laboratorium vermeldde een diameter <6 mm.

⁵ Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt: 5 µg door laboratoria die de EUCAST- of SFM-richtlijnen volgen en 30 µg door laboratoria die het gebruik van de CLSI-richtlijnen of van EUCAST vermeld hebben.

⁶ Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt: 10 µg door laboratoria die de EUCAST-richtlijnen volgen en 30 µg door laboratoria die het gebruik van de CLSI-richtlijnen of van EUCAST vermeld hebben.

De resultaten en de diameters bekomen door de laboratoria die de Neosensitabs schijfjes gebruiken, vindt u in onderstaande tabel. Laboratoria die de gebruikte lading niet vermelden of een verkeerde lading gebruiken werden niet in deze tabel opgenomen.

Tabel 4.1.3 Resultaten bekomen met de Neosensitabs schijfjes voor staal M/17016 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline ¹	(9)	-	-	-	-	-	6
	2	2 ²	9	9 – 9	-	-	2
	1	10	10	-	-	-	1
Gentamicine	2 (2)	250	10	10 – 10	-	-	2
Vancomycine ³	(7)	-	-	-	-	-	7
	3	5 ⁴	9	9 – 10	-	-	3
	2	30	12.5	11 – 14	-	-	2
Linezolide	3 (3)	10	26	24 – 27	3	-	-

¹ Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt: 2 µg door laboratoria die het gebruik van de CLSI-richtlijnen of van EUCAST vermeld hebben en 10 µg door laboratoria die de EUCAST-richtlijnen volgen.

² Eén laboratorium vermeldde een diameter ≤10 mm en één laboratorium vermeldde een diameter van 0.

³ Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt: 5 µg door laboratoria die de EUCAST-richtlijnen volgen en 30 µg door laboratoria die het gebruik van de CLSI-richtlijnen volgen.

⁴ Eén laboratorium vermeldde een diameter ≤10 mm en één laboratorium vermeldde een diameter van 0.

De resultaten die met de methoden voor bepaling van de gradiënt MIC (E-test, MICE-test, MIC Test Strip) bekomen werden, zijn samengevat in onderstaande tabel.

Tabel 4.1.4. Resultaten bekomen MIC-waarden met de gradiënt MIC methoden voor staal M/17016 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Ampicilline	7	7 x R	48 mg/L; 6 x >256 mg/L
Gentamicine	9	9 x R	6 x ≥ 256 mg/L; >500 mg/L; 2 x >1024 mg/L
Vancomycine	45	2 x I 43 x R	16 mg/L; 24 mg/L 6 x 8 mg/L; 8 x 12 mg/L; 18 x 16 mg/L; 4 x 24 mg/L; 5 x ≥32 mg/L; 48 mg/L; ≥256 mg/L
Teicoplanine	25	25 x S	0.125 mg/L; 2 x 0.25 mg/L; 0.38 mg/L; 3 x 0.5 mg/L; 9 x 0.75 mg/L; 7 x 1 mg/L; 2 x 2 mg/L
Linezolide	10	10 x S	1 mg/L; 4 x 1.5 mg/L; 2 x 2 mg/L; 2 x 3 mg/L; 4 mg/L

De resultaten die met de verschillende microdilutie methoden (Sensititre, Umic, Micronaut, MIC strip, andere) bekomen werden, zijn samengevat in onderstaande tabel.

Tabel 4.1.5. Resultaten bekomen MIC-waarden met de microdilutie voor M/17016 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Ampicilline	1	1 x R	>256 mg/L
Vancomycine	2	2 x R	8 mg/L; 14 mg/L
Teicoplanine	1	1 x S	0.75 mg/L
Linezolide	1	1 x S	2 mg/L

De resultaten bekomen met de Vitek worden weergegeven in onderstaande tabel (de resultaten van Vitek 2 en Vitek 2 compact werden gegroepeerd).

Tabel 4.1.6. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/17016 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/L)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Range (mg/L)
	S	I	R			
Ampicilline	-	-	75	≥32	71 (75)	>16 - ≥32
Gentamicine	-	-	52	‡	(52)	‡
Vancomycine	-	-	67	≥32	64 (67)	>16 - ≥32
Teicoplanine	66	-	-	≤0.5	65 (66)	≤0.12 - ≤0.5
Linezolide	71	-	-	2	71 (71)	-

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

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 4.1.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor M/17016 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/L)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Range (mg/L)
	S	I	R			
Ampicilline	-	-	20	>8	15 (20)	>8 - >16
Gentamicine	-	-	20	>500	13 (20)	>4 - >500 ¹
Vancomycine	-	-	18	>4	13 (18)	>4 - 16
Teicoplanine	18	-	-	≤1	14 (18)	≤0.5 - ≤1
Linezolide	19	-	-	2	16 (19)	1 - 2

¹ Zeven laboratoria vermelden >4 en dertien >500 mg/L)

Twee laboratoria hebben Microscan gebruikt voor de bepaling van de gevoeligheid: voor ampicilline, gentamicine, vancomycine (beide laboratoria hebben "R" geantwoord voor deze 3 antibiotica), teicoplanine en linezolide (beide laboratoria hebben "S" geantwoord voor deze 2 antibiotica).

De meeste laboratoria behielden het ruw resultaat voor het antwoorden van het finale resultaat. Toch wijzigden twee laboratoria het ruw resultaat "S" naar het finale "R" voor vancomycine: één laboratorium voor de papieren schijfjes (mede gebaseerd op de resultaten van andere technieken) en één voor de gradiënt MIC-bepaling.

4.2. Cultuur M/17125 (*Klebsiella pneumoniae*)

Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid met meer dan 1 methode; in alle gevallen kwamen deze resultaten overeen.

Enkele laboratoria vermeldden dat ze de kiem in routine naar het referentiecentrum zouden sturen voor opsporen van een hypervirulente *K. pneumoniae*.

Tabel 4.2.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/17125 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	Niet in routine
Ampicilline	R	122	1	-	121	4
Amoxicilline-clavulaanzuur	S	124	123	-	1	-
Temocilline	S	117	114	3	-	25
Cefuroxime	S	123	120	3	-	6
Cefotaxime	S	96	96	-	-	25
Ceftazidime	S	120	120	-	-	37
Ceftriaxone ¹		11	11	-	-	2
Cefepime ²		4	4	-	-	2
Meropenem	S	120	120	-	-	45
Ertapenem ³		1	1	-	-	1
Imipenem ¹		1	1	-	-	1
Amikacine	S	118	118	-	-	17
Gentamicine ⁴		9	9	-	-	1
Tobramycine ⁴		2	2	-	-	1
Ciprofloxacin	S	116	116	-	-	6
Levofloxacin ⁵		9	9	-	-	-
Trimethoprim-sulfametoxazole	S	121	121	-	-	8

¹ Elf laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor ceftriaxone i.p.v. cefotaxime.

² Vier laboratoria bepaalden, naast de gevoeligheid voor derde generatie cefalosporines, ook deze voor het 4^e generatie cefepime.

³ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor meropenem, ertapenem en imipenem.

⁴ Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor amikacine, gentamicine en tobramycine; zeven laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor amikacine en gentamicine.

⁵ Acht laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor levofloxacin i.p.v. ciprofloxacin; één laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor levofloxacin en ciprofloxacin

Het in de tabellen 4.2.2. tot en met 4.2.6. weergegeven resultaat is het finale resultaat, na eventuele wijziging via toepassing der expert-regels.

De resultaten en de diameters bekomen door de laboratoria die de papieren schijfjes gebruiken, vindt u in onderstaande tabel. Laboratoria die de gebruikte lading niet vermelden of een verkeerde lading gebruiken werden niet in deze tabel opgenomen.

Tabel 4.2.2. Resultaten bekomen met de papieren schijfjes voor staal M/17125 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	24 (25)	10	9	5 – 13	-	-	25
Amoxicilline-clavulaanzuur	25 (25)	20 + 10	25	19 – 27	25	-	-
Temocilline	22 (22)	30	25	16 – 28	20	2	-
Cefuroxime	24 (24)	30	26	24 – 34	21	3	-
Cefotaxime ¹	(17)	-	-	-	17	-	-
	14	5	30	27 – 33	14	-	-
	3	30	33	28 – 33	3	-	-
Ceftazidime ²	(23)	-	-	-	23	-	-
	21	10	28	22 – 31	21	-	-
	2	30	29	23 – 29	2	-	-
Ceftriaxone	2 (2)	30	33	30 – 36	2	-	-
Cefepime	1 (1)	30	37	-	1	-	-
Meropenem	23 (23)	10	30	26 – 34	23	-	-
Amikacine	21 (21)	30	20	18 – 24	21	-	-
Gentamicine	3 (3)	10	20	20 – 23	3	-	-
Ciprofloxacine	21 (21)	5	32	25 – 37	21	-	-
Levofloxacine	2 (2)	5	29	29 – 29	2	-	-
Trimethoprim-sulfametoxazole	25 (25)	30	26	21 – 30	25	-	-

¹ Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt: 5 µg door laboratoria die de EUCAST- of SFM-richtlijnen volgen en 30 µg door laboratoria die EUCAST- of CLSI -richtlijnen volgen.

² Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt: 10 µg door laboratoria die de EUCAST- of SFM-richtlijnen volgen en 30 µg door laboratoria die de CLSI-richtlijnen volgen.

De resultaten en de diameters bekomen door de laboratoria die de Neosensitabs schijfjes gebruiken, vindt u in onderstaande tabel. Laboratoria die de gebruikte lading niet vermelden of een verkeerde lading gebruiken werden niet in deze tabel opgenomen.

Tabel 4.2.3. Resultaten bekomen met de Neosensitabs voor staal M/17125 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Ampicilline	4 (4)	10	9	9 – 12	-	-	4
Amoxicilline-clavulaanzuur	7 (7)	20 + 10	24	22 – 24	7	-	-
Temocilline	5 (5)	30	26	25 – 28	5	-	-
Cefuroxime	6 (6)	30	26	23 – 29	6	-	-
Cefotaxime ¹	(3)	-	-	-	3	-	-
	2	5	28	26 – 30	2	-	-
	1	30	31	-	1	-	-
Ceftazidime ²	5 (5)	-	-	-	5	-	-
	3	10	27	24 – 28	3	-	-
	2	30	33.5	31 – 36	2	-	-
Meropenem	5 (5)	10	31	29 – 36	5	-	-
Amikacine	5 (5)	30	20	18 – 20	5	-	-
Ciprofloxacine	3 (3)	5	30	30 – 33	3	-	-
Levofloxacine	2 (2)	5	28.5	28 – 29	2	-	-
Trimethoprim-sulfametoxazole	5 (5)	30	25	24 – 28	5	-	-

¹ Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt; alle laboratoria vermelden de EUCAST-richtlijnen te volgen.

² Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt: 10 µg door laboratoria die de EUCAST-richtlijnen volgen en 30 µg door laboratoria die de CLSI- of Neosensitabs-richtlijnen volgen.

Twee laboratoria gebruikten de gradiënt MIC voor de bepaling van de gevoeligheid. Het ene laboratorium bewaam het resultaat "R" voor ampicilline (MIC-waarde: 48 mg/L), "I" voor temocilline (2 mg/L), en "S" voor amoxicilline-clavulaanzuur (2 mg/L), cefuroxime (1.5 mg/L), cefotaxime (0.023 mg/L), ceftazidime (0.094 mg/L), meropenem (0.04 mg/L), amikacine (4 mg/L), ciprofloxacine (0.023 mg/L) en trimethoprim-sulfametoxazole (0.064). Het andere laboratorium bewaam het resultaat "S" voor temocilline (3 mg/L)

De resultaten die met de verschillende microdilutie methoden (Sensititre, Umic, Micronaut, MIC strip, andere) bekomen werden, zijn samengevat in onderstaande tabel.

Tabel 4.2.4. Resultaten bekomen MIC-waarden met de microdilutie voor staal M/17125 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Ampicilline	1	1 x R	32 mg/L
Amoxicilline-clavulaanzuur	2	2 x S	2 x ≤4 mg/L
Cefotaxime	3	3 x S	≤0.25 mg/L; 2 x ≤0.5 mg/L
Ceftazidime	3	3 x S	3 x ≤0.5 mg/L
Meropenem	3	3 x S	≤0.03 mg/L; 2 x ≤0.12 mg/L
Amikacine	2	2 x S	2 x ≤4 mg/L
Ciprofloxacin	3	3 x S	0.03 mg/L; 2 x ≤0.06 mg/L
Trimethoprim-sulfametoxazole	3	3 x S	0.5 mg/L; 2 x ≤1 mg/L

De resultaten bekomen met de Vitek worden weergegeven in onderstaande tabel (de resultaten van Vitek 2 en Vitek 2 compact werden gegroepeerd).

Tabel 4.2.5. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/17125 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/L)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermeldde (Totaal aantal gebruikers)	Range (mg/L)
	S	I	R			
Ampicilline	-	-	81	16	46 (81)	16 – 32
Amoxicilline-clavulaanzuur	81	-	-	≤2	81 (81)	-
Temocilline	75	2	-	≤4	77 (77)	-
Cefuroxime	81	-	-	≤1	79 (81)	≤1 – 4
Cefotaxime	77	-	-	≤0.25	75 (77)	≤0.25 - ≤1
Ceftazidime	78	-	-	≤0.12	77 (78)	≤0.12 - ≤0.25
Cefepime	2	-	-	≤0.12	2 (2)	-
Meropenem	77	-	-	≤0.25	77 (77)	-
Amikacine	78	-	-	≤2	76 (78)	≤2 – 4
Gentamicine	5	-	-	≤1	5 (5)	-
Tobramycine	1	-	-	≤1	1 (1)	-
Ciprofloxacin	74	-	-	≤0.25	74 (74)	-
Levofloxacin	5	-	-	≤0.12	4 (5)	≤0.12 - ≤0.25
Trimethoprim-sulfametoxazole	76	-	-	≤20	76 (76)	-

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 4.2.6. Resultaten bekomen met de Phoenix voor staal M/17125 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibioticum	Finaal resultaat			Meest vermelde MIC waarde (mg/L)	Aantal labo's dat deze MIC waarde vermelde (Totaal aantal gebruikers)	Range (mg/L)
	S	I	R			
Ampicilline	1 ¹	-	19	>8	20 (20)	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	20	-	-	≤2/2	20 (20)	-
Temocilline	20	-	-	≤4	20 (20)	-
Cefuroxime	20	-	-	≤2	20 (20)	-
Cefotaxime	1	-	-	≤1	1 (1)	-
Ceftazidime	19	-	-	≤1	12 (19)	≤0.5 - ≤1
Ceftriaxone	10	-	-	≤0.5 en ≤1	5 en 5 (10)	≤0.5 - ≤1
Cefepime	1	-	-	≤1	1 (1)	-
Meropenem	20	-	-	≤0.125	20 (20)	-
Ertapenem	1	-	-	≤0.25	1 (1)	-
Imipenem	1	-	-	0.5	1 (1)	-
Amikacine	20	-	-	≤4	20 (20)	-
Gentamicine	1	-	-	≤1	1 (1)	-
Tobramycine	1	-	-	≤1	1 (1)	-
Ciprofloxacin	20	-	-	≤0.25	15 (20)	≤0.125 - ≤0.25
Levofloxacin	1	-	-	≤0.5	1 (1)	-
Trimethoprim-sulfametoxazole	20	-	-	≤1/19	20 (20)	-

¹ Wellicht heeft één laboratorium het verkeerde vakje aangeklikt: het bekwam immers een MIC-waarde >8 mg/L.

Twee laboratoria hebben Microsan gebruikt voor de bepaling van de gevoeligheid. Het ene laboratorium voor ampicilline ("R"), amoxicilline-clavulaanzuur, temocilline, cefuroxime, cefotaxime, ceftazidime, meropenem, amikacine, ciprofloxacin en trimethoprim-sulfametoxazole (alle 9 "S"); het andere voor ampicilline ("R"), amoxicilline-clavulaanzuur, cefuroxime, cefotaxime, ceftazidime, meropenem, amikacine, ciprofloxacin en trimethoprim-sulfametoxazole (alle 8 "S")

De meeste laboratoria behielden het ruw resultaat voor het antwoorden van het finale resultaat. Toch wijzigde één laboratorium het ruw resultaat "S" naar het finale "I" voor temocilline voor Vitek 2.

5.1. De monsters

Ter gelegenheid van deze enquête werden 2 stoelgangsstalen verzonden.
121 laboratoria (alle ingeschreven labo's) hebben een antwoord ingegeven.

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/17257

2-jarige jongen uit de Filippijnen, sinds 1 maand geadopteerd. Geen noemenswaardige klachten.

P/17258

Een 50-jarige patiënt heeft al sinds 3 dagen diarree en last van buikkrampen. Geen notie van recente reizen.

Staal P/17257 bevatte eieren van *Trichuris trichiura*.

Staal P/17258 was negatief: het bevatte geen parasieten.

Deze antwoorden omvatten de parasieten, die alle laboratoria teruggevonden zouden moeten hebben. Het is echter steeds mogelijk dat een aliquot nog andere parasieten bevat.

Staal P/17257 werd reeds verstuurd in de enquête 2015/2 onder staalnummer P/13282.

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/17257

De 121 laboratoria hebben 123 antwoorden ingeleverd: 2 laboratoria hebben “afwezigheid van parasieten” geantwoord, 117 laboratoria antwoordden één parasiet en 2 laboratoria antwoordden 2 parasieten.

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.2.1. Resultaten voor staal P/17257

Resultaat	Aantal
<i>Trichuris trichiura</i>	116
<i>Cryptosporidium</i> species	4
<i>Entamoeba</i> species	1
Afwezigheid van parasieten	2
Totaal	123

Drie laboratoria vermeldden dat de eieren van *T. trichiura* zeldzaam waren.

De laboratoria die de combinatie van twee parasieten antwoordden, vermeldden respectievelijk “*T. trichiura* + *Cryptosporidium* species” en “*T. trichiura* + *Entamoeba* species”.

Eén van de laboratoria die *Cryptosporidium* species antwoordde, heeft vermoedelijk beide stalen omgewisseld: voor staal P/17258 antwoordde dit laboratorium immers *T. trichiura*.

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Trichuris trichiura* worden in onderstaande tabel weergegeven.

Tabel 5.2.2. Evolutiestadia voor *Trichuris trichiura* voor staal P/17257

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Ei	108
Onbevucht ei	3
Bevucht ei	1
Cyste	2
Volwassen vorm	1
Niet gepreciseerd	1
Totaal	116

De vergelijking van de resultaten bekomen in 2015/2 en 2020/2 wordt in onderstaande tabel getoond.

Tabel 5.2.3. Vergelijking van de resultaten voor staal P/13282 (2015/2) en P/17257 (2020/2) (*Trichuris trichiura*).

Staalnummer (enquête)	% correcte resultaten
P/13282 (2015/2)	82.3%
P/17257 (2020/2)	95.9%

8 laboratoria zouden dit staal in routine doorsturen naar een referentiecentrum: 6 hebben *Trichuris trichiura* geantwoord, één “*T. trichiura* + *Entamoeba* species” en één laboratorium *Cryptosporidium* species.

5.3. Resultaten voor staal P/17258

De 121 laboratoria leverden 122 antwoorden in. 106 laboratoria antwoordden “afwezigheid van parasieten”, 14 laboratoria antwoordden één parasiet en 1 laboratorium 2 parasieten. Wij wensen te benadrukken dat indien u geen parasieten waargenomen hebt, u in de toolkit “afwezigheid van parasieten” dient te antwoorden (en niet het antwoord openlaten). De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.3.1. Resultaten voor staal P/17258

Resultaat	Aantal
Afwezigheid van parasieten	106
<i>Cryptosporidium</i> species	3
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	2
<i>Ascaris lumbricoides</i>	2
<i>Diphyllobothrium latum</i>	2
<i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Cryptosporidium parvum</i>	1
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	1
<i>Fasciola</i> species	1
Fasciolidae	1
<i>Necator americanus</i>	1
<i>Trichuris trichiura</i>	1
Totaal	122

Het laboratorium dat de combinatie van twee parasieten antwoordde, vermeldde “*Diphyllobothrium latum* + *Necator americanus*”. Zoals reeds hoger vermeld heeft het laboratorium dat *Trichuris trichiura* antwoordde, wellicht beide stalen omgewisseld.

5 laboratoria zouden het staal in routine doorsturen naar een referentiecentrum: 1 van de laboratoria die *Cryptosporidium* species antwoordde, de laboratoria die *Entamoeba histolytica/dispar*, *Fasciola* species of Fasciolidae antwoordden en 1 laboratorium “afwezigheid van parasieten” antwoordde.

5.4. Commentaar op de enquête

We verwijzen naar het commentaar op de enquête 2015/2.

VI. Serologie

6.1. Borrelia

6.1.1. Informatie betreffende de verstuurde stalen

Er werden 2 stalen rondgestuurd voor Borrelia-serologie.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

Staal S/7273

Een 25-jarige man merkt een tweetal weken na een “zomerse wandeltocht op het platteland” een huidletsel ter hoogte van zijn onderbeen en raadpleegt zijn huisarts.

Staal IS/16931

Een 8-jarige jongen presenteert zich met facialisparesis. Hij is sinds twee weken terug van scoutskamp in Limburg.

Staal IS/16931 was vergezeld van een bijkomende vraag: Wordt er CSV en serum van deze patiënt opgestuurd naar het referentielaboratorium voor opsporen van neuroborreliose?

De verwachte resultaten waren:

S/7273:

IgG positief
IgM negatief
Interpretatie: Aanwezigheid van antistoffen

IS/16931:

IgG negatief
IgM negatief
Interpretatie: Afwezigheid van Borrelia antistoffen. Bij een ziekte duur < 6-8 weken zijn er mogelijks nog geen antistoffen gevormd. Graag herhaling binnen 2 tot 4 weken indien duidelijke klinische indicatie.

6.1.2. De deelnemers

110 laboratoria (alle ingeschreven labo's) hebben een antwoord ingegeven. Ze voerden 240 testen uit op staal S/7273 en 227 testen op staal IS/16931.

De uitgevoerde testen kunnen als volgt gegroepeerd worden:

- IgG+M (één kit die beide antistoffen tegelijkertijd bepaalt): bepaling van specifiek tegen het C6 proteïne gerichte antistoffen
- IgG:
 - ELISA, EIA, IFA, ELFA, ...
 - blot bepalingen (immunoblot, dot blot, western blot)
- IgM:
 - ELISA, EIA, IFA, ELFA, ...
 - blot bepalingen (immunoblot, dot blot, western blot)

(NB In de verdere bespreking van de verwerking zijn de ELISA, EIA, IFA, ELFA, ... technieken gegroepeerd onder de benaming “niet-blot” om de leesbaarheid te vergemakkelijken)

Op staal S/7273 voerden 4 laboratoria 1 test uit, 87 laboratoria voerden 2 testen uit, 14 laboratoria 3 testen en 5 laboratoria 4 testen.

De verdeling van deze testen is als volgt:

- IgG+M:	7
- IgG:	122
- "niet-blot":	104
- blot:	18
- IgM:	121
- "niet-blot":	104
- blot:	7

Op staal IS/16931 voerden 5 laboratoria 1 test uit, 98 laboratoria voerden 2 testen uit, 2 laboratoria 3 testen en 5 laboratoria 4 testen.

De verdeling van deze testen is als volgt:

- IgG+M:	7
- IgG:	110
- "niet-blot":	103
- blot:	7
- IgM:	110
- "niet-blot":	103
- blot:	7

De verdeling van de gebruikte testen in functie van de gebruikte technieken wordt weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.1. Verdeling der gebruikte testen in functie van de techniek voor bepaling van anti-Borrelia antistoffen, enquête 2020/1.

N testen	Aard kit	Type techniek	S/7273	IS/16931
1 test	Totale As	anti-C6	4	5
2 testen	IgG en IgM	nietblot - nietblot	87	98
3 testen	Tot. As. en IgG en IgM	antiC6 – blot – blot	3	2
	2 x IgG en IgM	Niet-blot – blot- niet-blot	11	-
4 testen	2 x IgG en 2 x IgM	Niet-blot – niet-blot – niet-blot – niet-blot	1	-
		Niet-blot – blot – niet-blot – blot	4	5
Totaal			110	110

6.1.3. Gebruikte reagentia

6.1.3.1. Voor de totale As

Tabel 6.1.2.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van Borrelia totale antistoffen.

Fabrikant	Kit	S/7273	IS/16931
Immunetics (verdelers Lucron)	C6 B. burgdorferi (Lyme) ELISA	7	7
Totaal		7	7

6.1.3.2. Voor IgG (alle methoden samen)

Tabel 6.1.3.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van Borrelia IgG.

Fabrikant	Kit	S/7273	IS/16931
bioMérieux	VIDAS Lyme IgG	31	30
Diasorin	Liaison Borrelia IgG	54	54
	B. burgdorferi IgG Elisa	1	1
Diesse (verdeler BMD)	Chorus trio IgG	3	3
Euroimmun (verdeler Biognost)	Borrelia Plus VLsE Elisa IgG	4	4
	Anti-Borrelia Select ELISA IgG	1	1
	Borrelia Euroline RN-AT IgG	6	2
	Euroline WB Borrelia IgG	7	2
	WB B. burgdorferi IgG	1	1
Mikrogen (verdeler Euribel)	recomBead Borrelia IgG	1	1
Novatec (verdeler BMD)	Lyme Borrelia IgG EIA	1	1
Orgentec	Anti-Borrelia IgG	4	4
	Alegria Anti-Borrelia IgG	1	1
Serion (verdeler Labconsult)	B. burgdorferi classic ELISA IgG	1	1
Siemens	Enzygnost Lyme link VLsE IgG	2	2
Virotech	Borrelia LINE IgG Immunoblot	1	1
	Borrelia Europe plus TpN17 Line	3	1
Totaal		122	110

6.1.3.3. Voor IgM (alle methoden samen)

Tabel 6.1.4.: Reagentia gebruikt voor de bepaling van Borrelia IgM.

Fabrikant	Kit	S/7273	IS/16931
bioMérieux	VIDAS Lyme IgM	30	29
Diasorin	Liaison Borrelia IgM II	48	47
	Liaison Borrelia IgM Quant	6	7
	B. burgdorferi IgM Elisa	1	1
Diesse (verdeler BMD)	Chorus trio IgM	3	3
Euroimmun (verdeler Biognost)	Borrelia Elisa (IgM)	5	5
	Anti-Borrelia Select ELISA IgM	1	1
	Borrelia Euroline RN-AT IgM advanced	2	2
	Euroline WB Borrelia IgM	3	2
	WB B. burgdorferi IgM	1	1
Mikrogen (verdeler Euribel)	recomBead Borrelia IgM	1	1
Novatec (verdeler BMD)	Lyme Borrelia IgM EIA	1	1
Orgentec	Anti-Borrelia IgM	4	4
	Alegria Anti-Borrelia IgM	1	1
Serion (verdeler Labconsult)	B. burgdorferi classic ELISA IgM	1	1
Siemens	Enzygnost Borreliosis IgM	2	2
Virotech	Borrelia LINE IgM Immunoblot	1	2
Totaal		111	110

6.1.4. Resultaten

6.1.4.1. Staal S/7273

6.1.4.1.1. IgG+M

Alle laboratoria die de totale antistoffen bepaalden, bekwamen een positief resultaat voor staal S/7273. Ze gaven allen een kwantitatieve evaluatie: 3 vermeldden een gecensureerde waarde (index >8.62, >9.0 en >9.2); de 4 overige antwoorden respectievelijk 8.6, 8.79, 8.84 en 10.51.

6.1.4.1.2. IgG

Niet-blot bepalingen

Voor de niet-blot bepalingen bekwamen 101 laboratoria een positief resultaat (het laboratorium dat 2 verschillende methoden gebruikte, bekwam met beide een positief resultaat) en 2 laboratoria een negatief resultaat. Eén van deze beide laatste heeft wellicht de stalen omgewisseld aangezien zij voor staal IS/16931 een positief resultaat bekwamen.

Voor twee kits gaven een voldoende aantal gebruikers ($N \geq 6$) een kwantitatief resultaat in dezelfde eenheid om een statistische evaluatie toe te laten.

Voor VIDAS Lyme IgG kunnen we dit als volgt samenvatten: $n = 30$, mediane index = 6.18, minimum en maximum bedroegen respectievelijk 5.58 en 7.10.

Voor Liaison Borrelia IgG antwoordden 40 laboratoria >240 AU/mL en 1 laboratorium >200 AU/mL. Eén laboratorium bekwam de waarde <5 AU/mL (dit is het laboratorium dat de interpretatie "negatief" gaf). De resultaten van de overige 11 resultaten kunnen als volgt samengevat worden: mediaan = 220.1 AU/mL, minimum = 171.8 AU/mL en maximum = 1795.0 AU/mL

Blot bepalingen

Alle laboratoria die een blotbepaling uitvoerden voor de IgG bekwamen een positief resultaat.

6.1.4.1.3. IgM

Niet-blot bepalingen

Het overzicht van de resultaten wordt weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.5. Resultaten van de niet-blot bepalingen van IgM voor staal IS/7273.

Resultaat	N labo's
Negatief	72
Borderline	25
Positief/Negatief ¹	1
Positief	5
Totaal	103

¹ Eén laboratorium bekwam verschillende resultaten met de twee kits die het gebruikte.

De 6 positieve en 24 van de 25 borderline resultaten werden bekomen met de kit VIDAS Lyme IgM (m.a.w. alle gebruikers van deze kit bekwamen een “niet-negatief” resultaat).
Na contactname bezorgde de firma ons de volgende verklaring:

Hypothesis for this sample is a non-specific binding

Specificity is < 100%

Moreover as reminder on the package insert:

- Antibody detection methods do not provide definitive results for establishing or ruling out diagnosis of Lyme Borreliosis.
- Positive results with the VIDAS® Lyme IgG and IgM assays must be interpreted with caution. Cross-reactivity may be observed with certain diseases (13, 14): refer to section "Cross-reactivity".
- Clinical symptoms, epidemiological information and other laboratory test results must all be considered when interpreting VIDAS® Lyme IgM and IgG assay results.
- Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components or substances that affect the reaction. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed.
- Testing should be done only when exposure history, epidemiology and clinical symptoms suggest Lyme disease (14).

Blot bepalingen

Alle laboratoria die een blotbepaling uitvoerden voor de IgM bekwamen een negatief resultaat.

6.1.4.1.4. Interpretatie

6.1.4.1.4.1. Eigenlijke interpretatie

Een overzicht van de interpretaties wordt weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.6. Interpretaties voor staal S/7273.

Interpretatie	Aantal laboratoria
Aanwezigheid van Borrelia antistoffen	100
Positieve Borrelia serologie voor IgG. Te correleren met klinische gegevens en anamnese. ¹	1
Aanwezigheid van IgG en afwezigheid van IgM: resultaat compatibel met een secundaire of laattijdige vorm van borreliose, of immunologisch teken van een oude of behandelde infectie. Af te toetsen aan de klinische en chronologische context. Te bevestigen met een tweede staal binnen 3 tot 4 weken. ²	1
Aanwezigheid van IgG in hoge titer. Afwezigheid van IgM. Resultaten af te toetsen aan de kliniek. ³	1
Positieve serologie, te interpreteren in functie van de klinische context ⁴	1
Mogelijkheid van vroegtijdige infectie. De aanwezigheid van IgG en zelfs van IgM laat niet toe om een onderscheid te maken tussen een recente of een oude infectie. Elk resultaat moet samen met de symptomen geïnterpreteerd worden in functie van het ogenblik en de chronologie van de blootstelling evenals in functie van het vermoedelijke stadium van de Lyme borreliosis. ⁵	1
Recente infectie? Voorbijge infectie met aspecifieke IgM antistoffen? Ter interpreteren in functie van de klinische context en te controleren binnen de 3 a 4 weken ter evaluatie van de IgG antistof titer. ⁶	1
Aanwezigheid van IgM Borrelia antistoffen. Het serologisch resultaat ondersteunt de diagnose van Lyme borreliose niet indien de klachten > 8 weken bestaan (antibioticatherapie verhindert seroconversie). ⁷	1
De bioloog heeft een immunodot toegevoegd ter bevestiging van de IgG. De resultaten van deze serologie moeten steeds geïnterpreteerd worden in functie van de kliniek en het risico op blootstelling (kennis van een tekenbeet, infectielevel van de teken in de regio, ...) en de diagnose van Lyme borreliose mag niet louter op de positiviteit van de resultaten gebaseerd zijn. Het serologische profiel is compatibel met een actieve infectie, waarschijnlijk daterend minstens >3 maanden, als en enkel als er aanwezigheid is van een symptomatologie die compatibel is met een Lyme borreliose. Rekening houden met de mogelijkheid van een residuele serologie (serologisch litteken). Enkel de anamnese en de kliniek kunnen eventueel toelaten het onderscheid te maken. ⁸	1
Afwezigheid van Borrelia antistoffen. Bij een ziekte duur < 6-8 weken zijn er mogelijks nog geen antistoffen gevormd. Graag herhaling binnen 2 tot 4 weken indien duidelijke klinische indicatie. ⁹	2
Totaal	110

¹ Technische resultaten van dit laboratorium: IgG niet-blot en blot: positief en IgM niet-blot negatief.

² Technische resultaten van dit laboratorium: IgG niet-blot positief en IgM niet-blot negatief.

³ Technische resultaten van dit laboratorium: IgG niet-blot en blot: positief en IgM niet-blot negatief.

⁴ Technische resultaten van dit laboratorium: IgG niet-blot: positief; IgM niet-blot: negatief.

⁵ Technische resultaten van dit laboratorium: IgG niet-blot: positief; IgM niet-blot: borderline.

⁶ Technische resultaten van dit laboratorium: IgG niet-blot: positief; IgM niet-blot: borderline

⁷ Technische resultaten van dit laboratorium: IgG niet-blot: positief; IgM niet-blot: borderline.

⁸ Technische resultaten van dit laboratorium: IgG niet-blot: positief; IgM niet-blot: borderline.

⁹ Technische resultaten van deze laboratoria: IgG niet-blot en IgM niet-blot: negatief

27 van de laboratoria die een borderline of positief resultaat bekwamen voor de IgM niet blot bepalingen, gaven de interpretatie “Aanwezigheid van antistoffen”: de interpretaties van de overige laboratoria met afwijkende resultaten zijn in bovenstaande tabel terug te vinden.

6.1.4.1.4.2. Opmerkingen gegeven door laboratoria die “aanwezigheid van antistoffen” vermeld hebben

98 laboratoria die het antwoord “Aanwezigheid van Borrelia antistoffen” verstrekten, gaven een opmerking. Een overzicht hiervan wordt weergegeven in onderstaande tabel

Tabel 6.1.7. Opmerkingen bij het antwoord “Aanwezigheid van antistoffen” voor staal S/7273.

Opmerking	Aantal laboratoria
Een bevestiging door middel van Western Blot is noodzakelijk	38
Bij een typische erythema migrans is normaliter therapie vereist zonder antistofbepaling	29
Het laboratorium heeft zelf reeds een Western Blot uitgevoerd ¹	22
Een bevestiging door middel van Western Blot is niet noodzakelijk	5
Bij een typische erythema migrans is normaliter therapie vereist zonder antistofbepaling en Het laboratorium heeft zelf reeds een Western Blot uitgevoerd	2
Borrelia serologie dient steeds in zijn klinische context te worden beoordeeld. Afwezigheid van IgM antistoffen en aanwezigheid van IgG antistoffen (bevestigd met blot: p100, VlsE, p58, p41, p39 en p18 positief) wijzen eerder op een oude infectie met Borrelia. Belangrijk is om verder te bevragen naar vroegere al dan niet behandelde Lyme infectie en symptomen die zouden kunnen wijzen op een laattijdige Lyme ziekte (neurologische symptomen, carditis, arthritis, ...). Er kan nu een herinfectie zijn met Borrelia met nog afwezige IgM antistoffen (ziekteduur < 6-8 weken). Als het huidige huidletsel een typisch erythema migrans is, is therapie vereist zonder verdere antistofbepaling. Als dit geen typisch huidletsel is, kan een herhaling van de serologie binnen 2-4 weken aangeraden zijn indien duidelijke klinische indicatie.	1
Aangepaste therapie starten	1
Totaal	98

¹ Een aantal van deze laboratoria (maar niet alle) vermeldden het resultaat van de blottest (sommigen bij de resultaten, anderen in een opmerking zonder vermelding van de gebruikte kit).

Enkele laboratoria die “aanwezigheid van antistoffen” antwoordden, vermeldden in de vrije tekst bijkomende opmerkingen:

- Serologisch profiel past bij een eerder doorgemaakte infectie.
- De afwezigheid van IgM anti-Borrelia antistoffen, gekoppeld aan de door blot bevestigde aanwezigheid van IgG anti-Borrelia kan aangetroffen worden bij een actieve, latente of oude Borrelia-infectie. Dit resultaat moet getoetst worden aan de klinische context van de patiënt (lijkt het letsel ter hoogte van de kuit op een erythema migrans?). De aanwezigheid van een erythema migrans vereist geen Borrelia-serologie maar wel een antibioticatherapie.
- Indien geen typische erythema migrans, zou het antwoord zijn: een bevestiging door middel van blot is noodzakelijk
- Het betreft een oud contact
- Bij een typische erythema migrans is normaliter therapie vereist zonder antistofbepaling. De IgG kan wijzen op een oude infectie.
- Bevestiging van de aanwezigheid van waarschijnlijk oude IgG

De 8 laboratoria die een variant op “Aanwezigheid van Borrelia antistoffen” verstrekten, gaven eveneens een opmerking. Een overzicht hiervan wordt weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.8. Opmerkingen bij varianten op het antwoord “Aanwezigheid van antistoffen” voor staal S/7273.

Opmerking	Aantal laboratoria
Een bevestiging door middel van Western Blot is noodzakelijk	3
Het laboratorium heeft zelf reeds een Western Blot uitgevoerd	2
Bij een typische erythema migrans is normaliter therapie vereist zonder antistofbepaling	2
Een bevestiging door middel van Western Blot is niet noodzakelijk	1
Totaal	8

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

- IgM blot (wel IgG niet-blot en blot en IgM niet-blot): 3 labo's
- IgM niet-blot (wel 2 x IgG niet-blot en 2^e IgM niet-blot): 1 labo
- Totale As. (wel IgG blot en IgM blot): 1 labo
- IgG niet-blot (wel IgM niet-blot) 1 labo

6.1.4.2. Staal IS/16931

6.1.4.2.1. IgG+M

Alle laboratoria die de totale antistoffen bepaalden, bekwamen een negatief resultaat voor staal IS/16931.

6.1.4.2.2. IgG

Niet-blot bepalingen

Voor de niet-blot bepalingen bekwamen 99 laboratoria een negatief resultaat, 2 laboratoria een borderline resultaat en 2 laboratoria een positief resultaat (één van deze beide is het laboratorium dat wellicht de stalen omgewisseld heeft (cfr. supra)).

Blot bepalingen

Zes laboratoria die een blotbepaling uitvoerden voor de IgG bekwamen een negatief resultaat en 1 laboratorium een positief resultaat.

6.1.4.2.3. IgM

Niet-blot bepalingen

Voor de niet-blot bepalingen bekwamen 102 laboratoria een negatief resultaat en 1 laboratorium een borderline resultaat.

Blot bepalingen

Vier laboratoria die een blotbepaling uitvoerden voor de IgM bekwamen een negatief resultaat en drie een borderline resultaat.

6.1.4.2.4. Interpretatie

6.1.4.2.4.1. Eigenlijke interpretatie

Een overzicht van de interpretaties wordt weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.9. Interpretaties voor staal IS/16931

Interpretatie	Aantal laboratoria
Afwezigheid van Borrelia antistoffen. Bij een ziekte duur < 6-8 weken zijn er mogelijk nog geen antistoffen gevormd. Graag herhaling binnen 2 tot 4 weken indien duidelijke klinische indicatie.	102
Afwezigheid van Borrelia antistoffen. Bij sterk vermoeden neuroborreliose, kan serum nog negatief zijn bij aanwezige intrathecale synthese. Graag CSV opsturen bij sterk klinisch vermoeden. ¹	1
Afwezigheid van Borrelia antistoffen. Gezien facialisparesis is een lumbale punctie aan te bevelen om intrathecale synthese van Borrelia antistoffen uit te sluiten. ²	1
Afwezigheid van Borrelia antistoffen met clia methode, aanwezigheid van IgG anti VlsE anti Borrelia afzelii en garinii via de immunoblot van euroimmun ³	1
Twijfelachtige Borrelia serologie. Toch specifieke reactie met het VlsE antigeen? Restiter van een oude infectie? Eventueel te controleren binnen 2-3 weken (IgG seroconversie?) Te correleren met klinische gegevens en anamnese. ⁴	1
Resultaat op te sturen naar referentiecentrum voor bevestiging ⁵	1
Graag controlestaal ⁶	1
.	2
Aanwezigheid van Borrelia antistoffen ⁷	2
Totaal	110

¹ Technische resultaten van dit laboratorium: totale As en IgG blot negatief, IgM blot borderline.

² Technische resultaten van dit laboratorium: IgG niet-blot en IgM niet-blot: negatief

³ Technische resultaten van dit laboratorium: IgG niet-blot en IgM blot & niet-blot: negatief; IgG blot positief.

⁴ Technische resultaten van dit laboratorium: IgG niet-blot: negatief; IgG blot en IgM blot & niet-blot positief.

⁵ Technische resultaten van dit laboratorium: IgG niet-blot borderline en IgM niet-blot: negatief.

⁶ Technische resultaten van dit laboratorium: IgG niet-blot en IgM niet-blot: negatief

⁷ Technische resultaten van deze laboratoria: IgG niet-blot positief en IgM niet-blot: negatief.

6.1.4.2.4.2. Opmerkingen bij "Afwezigheid van Borrelia antistoffen"

80 laboratoria die het antwoord "Afwezigheid van Borrelia antistoffen" verstrekten, gaven een opmerking. Een overzicht hiervan wordt weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.10. Opmerkingen bij het antwoord "Afwezigheid van antistoffen" voor staal IS/16931.

Opmerking	Aantal laboratoria
Een bevestiging door middel van Western Blot is niet noodzakelijk	59
Bij een typische erythema migrans is normaliter therapie vereist zonder antistofbepaling	12
Een bevestiging door middel van Western Blot is noodzakelijk	1
Het laboratorium heeft zelf reeds een Western Blot uitgevoerd	1
Doorsturen van serum en lumbaalvocht naar het referentiecentrum	2
Hertesten op 2 ^e staalname ¹	2
Op vraag van neuroloog uitwerken Borrelia diagnostiek in CSV	1
Lumbaalpunctie is aangewezen in geval van vermoeden van een vroegtijdige neurologische aantasting door Borrelia. Hierbij wordt de aanwezigheid opgespoord van de intrathecale secretie van antistoffen gericht tegen Borrelia. Een controle (op serum) minstens 4 weken na de eerste serologie verhoogt de gevoeligheid in geval van acute neuroborreliose.	1
Aangepaste therapie starten	1
Totaal	87

¹ Eén laboratorium vermeldt dat dit na 4 weken dient te gebeuren

Enkele andere laboratoria vermelden in de vrije tekst dat een 2^e staalname aangewezen kan zijn na respectievelijk 2 à 3 weken, 3 weken of 4 weken. Eén laboratorium raadt aan eerst andere verwekkers van facialisparese op te sporen (HSV, VZV, EBV...).

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

- IgG en IgM blot (wel IgG en IgM niet-blot): 3 labo's
- IgM blot (wel IgG niet-blot en blot en IgM niet-blot): 1 labo
- IgG en IgM blot (wel totale As.) 2 labo's
- IgM niet-blot (wel IgG niet-blot): 1 labo
- Totale As. (enige test): 1 labo

6.1.5. Antwoord op de vraag of er CSV en serum van deze patiënt opgestuurd wordt voor opsporen van neuroborreliose

107 laboratoria hebben deze vraag beantwoord: 38 zouden de stalen opsturen, 69 zouden dit niet doen.

6.1.6. Commentaar op de enquête

Voor staal S/7273 hebben alle laboratoria een positief resultaat gerapporteerd, zowel de laboratoria die totale antistoffen bepalen (n=7) als de laboratoria die IgG apart bepalen (n=101). Alle laboratoria die blotbepaling hebben uitgevoerd (n=18), hadden allen een positief IgG resultaat.

Opvallend voor IgM werden 6/6 positieve en 24 van de 25 borderline resultaten gedetecteerd door het VIDAS (BioMerieux) toestel. De firma verklaart dit als een aspecifieke binding.

Wat de interpretatie betreft, is het zoals voor elk Borrelia resultaat, belangrijk voldoende informatie vanuit het laboratorium mee te geven aan de clinicus. Bij deze casus kan er vermeld worden dat IgG positiviteit niet noodzakelijk wijst op actieve infectie en dat men het resultaat moet aftoetsen met de kliniek. Ook was er sprake van een huidletsel. Indien een typische erythema migrans is therapie vereist zonder antistofbepaling of dient men standaard therapie te starten ongeacht het antistofresultaat.

Het tweede staal IS/16931 van een 8 jarige jongen die zich presenteert met facialisparesie na scouts-kamp met negatief resultaat voor IgG en IgM. Serologie voor IgM en IgG toonde over het algemeen een negatief resultaat. Slechts 4 resultaten (1 IgM en 3 IgG) waren niet negatief. Neuroborreliose (NB) bij kinderen uit zich in 50%-65% als een facialisparesie, waarvan voornamelijk unilateraal en vaak geassocieerd met aspecifieke symptomen zoals hoofdpijn en vermoeidheid [1-3]. Lyme geassocieerde facialis paresis kan heel vroeg in de infectie optreden, zelfs alvorens er een meetbare antistofrespons is in serum. Het is bijgevolg belangrijk bij sterk vermoeden de serologie te herhalen na 2 tot 4 weken of het staal door te sturen naar een laboratorium dat confirmatietesten in lumbaal vocht uitvoert. In zeldzame gevallen is er reeds intrathecale productie van antistoffen zonder aanwezigheid van antistoffen in bloed. Een Zweedse studie toont aan dat 88% van de kinderen met NB, na 4 weken symptomen, aantoonbare antistoffen heeft in lumbaal vocht [2]. Bij volwassenen presenteert slechts 5% van de patiënten, zich met een facialisparesie te wijten aan NB. Meningoradiculitis is hierbij de belangrijkste manifestatie [4].

Omwille van lage sensitiviteit bij vroege infectie en lage specificiteit van Borrelia diagnostiek, is het van belang om het laboratorium zoveel mogelijk informatie te bezorgen voor een correcte interpretatie. Belangrijke informatie kan zijn:

- Werd er een tekenbeet vastgesteld? Erythema migrans?
- Heeft de patiënt vroeger reeds Lyme doorgemaakt?
- Cytose lumbaal vocht
- Welke symptomen zijn er aanwezig en hoelang?
- Werd behandeling reeds gestart voor staalname?

M. Depypere, UZ Leuven

Referenties

1. Sodermark L, Sigurdsson V, Nas W, Wall P, Trollfors B. Neuroborreliosis in Swedish Children: A Population-based Study on Incidence and Clinical Characteristics. *Pediatr Infect Dis J*. 2017;36(11):1052-6.
2. Skogman BH, Croner S, Nordwall M, Eknefelt M, Ernerudh J, Forsberg P. Lyme neuroborreliosis in children: a prospective study of clinical features, prognosis, and outcome. *Pediatr Infect Dis J*. 2008;27(12):1089-94.
3. Mygland A, Ljostad U, Fingerle V, Rupprecht T, Schmutzhard E, Steiner I, et al. EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis. *Eur J Neurol*. 2010;17(1):8-16, e1-4.
4. <https://www.tekenbeetziekten.nl/wp-content/uploads/2014/08/CBO-richtlijn-Lymeziekte-versie-2013.pdf>

6.2. Syfilis

6.2.1. De stalen

Er waren 2 gelyofiliseerde plasmamonsters, IS/16577 en IS/17078 waarop antistoffen tegen syfilis bepaald dienden te worden. Onder staalnummer IS/17078 werden echter verschillende stalen verstuurd naar de laboratoria met paar en onpaar erkenningsnummer.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

IS/16577: Jonge man van 28 jaar komt op de consultatie bij huisarts met vage klachten (moe, malaise, myalgie) en een zeer discrete maculaire rash op zijn romp die hijzelf niet had opgemerkt. Eveneens is de rash merkbaar op handen en voetzolen. Hij heeft verschillende losse seksuele contacten. Hij past vaak op zijn petekindje dat ongeveer 3 weken geleden een virale infectie doormaakte.

IS/17078: Staal afgenomen op een jongerenbijeenkomst waar de deelnemers de gelegenheid wordt geboden zich anoniem te laten testen op SOI.

De verwachte interpretaties waren:

IS/16577: Interpretatie: Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie. Behandeling aangewezen.

IS/17078, pare labo's: Interpretatie: Geen antilichamen detecteerbaar.

IS/17078, onpare labo's Interpretatie: Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een laat stadium van infectie, doorgemaakte of behandelde syfilis, of, minder waarschijnlijk, een erg vroege infectie van 1 à 3 weken voordien. Te toetsen aan dossier, voorgaande therapie of kliniek.

6.2.2. De deelnemers

132 laboratoria (alle ingeschreven labo's) hebben een antwoord ingegeven: 82 pare en 50 onpare labo's.

Op staal IS/16577 voerden de laboratoria 293 testen uit, met name 179 treponemale testen (TT) (171 totale AS, 4 IgG en 4 IgM) en 114 niet-treponemale testen (NTT).

18 laboratoria voerden 1 test uit, 75 laboratoria voerden 2 testen uit, 34 laboratoria 3 testen, 2 laboratoria 4 testen en 3 laboratoria 5 testen.

Op staal IS/17078 voerden de 82 pare laboratoria 167 testen uit, met name 105 treponemale testen (101 totale AS, 2 IgG en 2 IgM) en 62 niet-treponemale testen.

22 laboratoria voerden 1 test uit, 41 laboratoria voerden 2 testen uit, 15 laboratoria 3 testen, 2 laboratoria 4 testen en 2 laboratoria 5 testen.

Op staal IS/17078 voerden de 50 onpare laboratoria 111 testen uit, met name 68 treponemale testen (67 totale AS en 1 IgG) en 43 niet-treponemale testen.

5 laboratoria voerden 1 test uit, 29 laboratoria voerden 2 testen uit en 16 laboratoria 3 testen.

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

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

Aantal testen	Type test	IS/16577	IS/17078 (pare labo's)	IS/17078 (onpare labo's)
1 test uitgevoerd	1 x treponemaal	18	22	5
2 testen uitgevoerd	1 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	73	41	27
	2 x treponemaal	2	-	2
3 testen uitgevoerd	2 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	34	15	16
4 testen uitgevoerd	3 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	1	2	-
	2 x treponemaal + 2 x niet-treponemaal	1	-	-
5 testen uitgevoerd	4 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	2	2	-
	3 x treponemaal + 2 x niet-treponemaal	1	-	-
Totaal		132	82	50

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

Type test	IS/16577	IS/17078 (pare labo's)	IS/17078 (onpare labo's)
Eén test: treponemaal	18	22	5
Combinatie treponemaal + niet-treponemaal	112	60	43
Combinatie enkel treponemaal	2	-	2
Totaal	132	82	50

6.2.3. Gebruikte reagentia

Volgende tabel geeft in aantal weer welke reagentia door de deelnemers gebruikt werden:
Tabel 6.2.3. Reagentia gebruikt in de Syfilis-serologie EKE 2020/2

Fabrikant	Kit	IS/16577	IS/17078 Pare labo's	IS/17078 Onpare labo's
Niet treponemale testen				
Alldiag	VDRL Check/RPR	1	1	-
Arlington	ASI RPR Card	1	1	-
Becton Dickinson	Macro-Vue RPR Card Test	13	5	4
	VDRL Cardioliipin Ag	2	2	-
Biokit	RPR-Reditest	33	17	15
bioMérieux	RPR-nosticon II	26	17	6
	Trepo-Spot IF	1	1	-
BioRad	RPR100	5	3	2
Chemelex	RPR Carbon	1	1	-
Elitech	RPR-VDRL Carbon	2	-	2
Omega Diagnostics (verdelers International Medical)	Immutrep RPR	3	3	-
	Immutrep Carbon antigen	1	-	1
Plasmatec (verdelers Forlab)	RPR Test kit	5	2	3
Roche	RPR Reagent kit	1	1	-
Sekisui	Sekure RPR Reagent	1	-	1
Selenion Medical	Carbon RPR card test	1	1	-
Spinreact	RPR Carbon	17	7	9
Totaal NTT		114	62	43
Treponemale testen				
Abbott	Architect Syphilis TP	26	13	13
	Alinity i Syphilis TP	8	5	3
Alldiag	TPHA Check	1	1	-
Axis Shield (verdelers Lucron)	Microsyph TPHA	2	-	1
Biokit	Syphagen TPHA	2	1	1
BioRad	TPHA 200	2	1	1
	Syphilis Total Ab	1	-	1
DiaSorin	Liaison Treponema Screen	30	24	6
Diesse (verdelers International Medical)	Chorus Syphilis screen recombinant	5	4	1
Elitech	TPHA	1	-	1
Euroimmun (verdelers Biognost)	Euroline WB Treponema pallidum (+cardiolipin) IgG	1	1	-
	Euroline WB Treponema pallidum (+cardiolipin) IgM	1	1	-
	WB Treponema pallidum IgG1	1	-	1
	Treponema pallidum FTA-Abs IgG	1	-	-
	Treponema pallidum FTA-Abs IgM	1	-	-
Fujirebio (verdelers Lameris)	Serodia TPPA	37	20	15
	Inno-Lia Syphilis Score	2	-	2
Mikrogen (verdelers Euribel)	RecomLine Treponema IgG	1	1	-
	RecomLine Treponema IgM	2	1	-
Newmarket Biomedical	Newbio-PK TPH	2	1	1
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros Immunodiagnosics Products Syphilis TPA	3	2	1
Oxoïd	TPHA test	1	1	-
Roche	Elecsys syphilis	23	13	10
	Cobas syphilis	12	8	4
	Modular syphilis	1	1	-
Siemens	ADVIA Centaur Syph	5	3	2
	Immulite 2000 Syphilis screen	3	1	2
	Atellica Syphilis	2	1	1
	Cellognost Syphilis H Combipack	1	1	-
Standard Diagnostics (Alere Health)	Syphilis 3.0 Rapid test	1	-	1
Totaal TT		179	105	68
Totaal		293	167	111

6.2.4. Resultaten

6.2.4.1. Staal IS/16577

6.2.4.1.1. Niet-treponemale testen

Onderstaande tabel geeft een overzicht van de resultaten.

Tabel 6.2.4. Resultaten voor de niet-treponemale testen voor staal IS/16577.

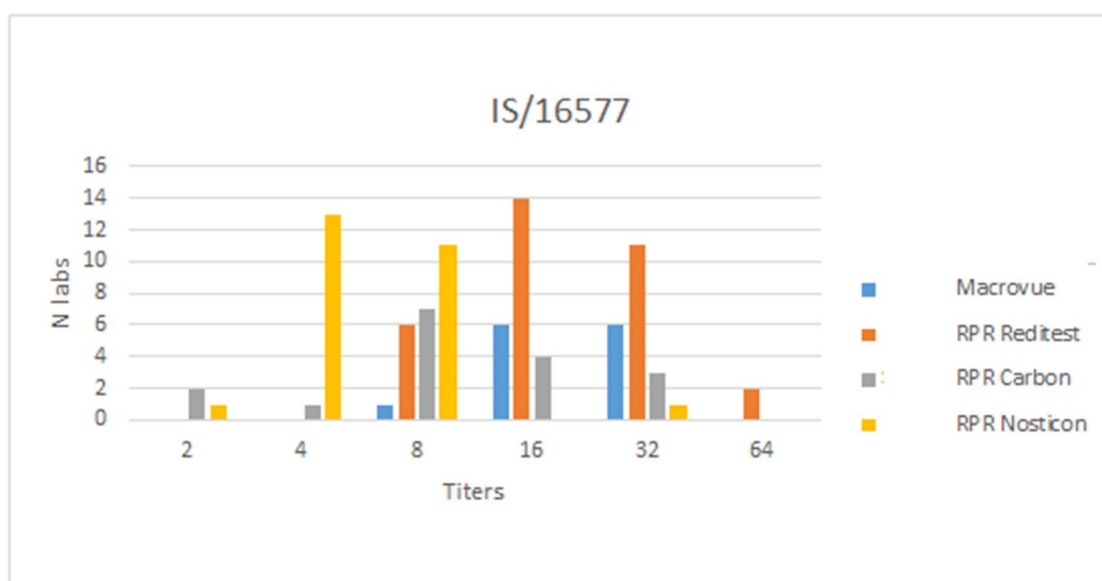
Resultaat	N labo's
Positief ¹	111
Borderline	1
Totaal	112

¹ Laboratoria die 2 kits gebruikten bekwamen met beide een positief resultaat

Voor de kits met minimum 6 gebruikers die het kwantitatief resultaat geantwoord hebben, hebben we mediaan, minimum en maximum berekend. Deze resultaten worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.2.5. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor de niet-treponemale testen voor staal IS/16577 voor de meest gebruikte kits.

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cutoff voor positiviteit
Macro-View RPR Card Test (titer)	13	1/16	1/8	1/32	Pos. resultaat in « test well »
RPR Reditest (titer)	33	1/16	1/8	1/64	Pos. resultaat in « test well »
RPR-nosticon II (titer)	26	1/4	1/2	1/32	Pos. resultaat in « test well »
RPR carbon Spinreact (titer)	17	1/8	1/2	1/32	Pos. resultaat in « test well »



6.2.4.1.2. Treponemale testen

a) Resultaten van de testen die de “totale” antistoffen bepalen

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat (laboratoria die 2 kits gebruikten, bekwamen met beide een positief resultaat).

Voor de kits met minimum 6 gebruikers die het kwantitatief resultaat geantwoord hebben, hebben we mediaan, minimum en maximum berekend. Deze resultaten worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.2.6. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor de treponemale testen voor staal IS/16577 voor de meest gebruikte kits.

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off voor positiviteit
Alinity i Syphilis TP (index)	8	21.30	20.00	24.02	1.00
Architect Syphilis TP (index)	26	26.82	20.80	32.10	1.00
Liaison Treponema Screen (index)	30	52.7	35.7	66.8	1.1 (0.9 – 1.1 = borderline)
Serodia-TPPA (titer) ¹	32	1/10480	1/2560	1/163480	Pos. resultaat in « test well »
Cobas syphilis (index)	12	359.0	257.6	393.0	1.00
Elecsys syphilis (index)	23	342.3	276.6	423.0	1.00

¹ Tevens antwoordde één labo een titer >1/10240 en 4 labo's een titer >1/20480

b) Resultaten van de testen die de IgG bepalen.

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat.

c) Resultaten van de testen die de IgM bepalen.

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat.

6.2.4.1.3. Interpretaties

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

Tabel 6.2.7. Interpretatie voor staal IS/16577 (syfilis).

Interpretatie	Aantal
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie. Behandeling aangewezen.	97
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een laat stadium van infectie, doorgemaakte of behandelde syfilis, of, minder waarschijnlijk, een erg vroege infectie van 1 à 3 weken voordien. Te toetsen aan dossier, voorgaande therapie of kliniek.	21
Actieve of doorgemaakte infectie. ¹	1
Profiel compatibel met een actieve syfilis, na de 15 ^e dag van de sjanker. Het profiel laat niet toe een recent genezen (syfilitische of endemische) treponematose uit te sluiten, noch een endemische actieve treponematose. Te toetsen aan de kliniek. NB: Serologische opvolging na de behandeling is onontbeerlijk. Dit gebeurt door VDRL/RPR na 3 maand, 6 maand, 1 jaar en nadien alle jaren tot negativering. De negativering van de VDRL/RPR wordt beschouwd als het beste criterium voor genezing. In principe, moet de titer met een factor 4 (2 verdunningen) gedaald zijn na 3-6 maand en moet negatief zijn na één jaar (primaire syfilis) tot twee jaar (secundaire syfilis). ²	1
Bepaling van niet treponemale test is noodzakelijk voor de interpretatie. ³	9
Laboratoria die de interpretatie open laten ³	3
Totaal	139

¹ Technische resultaten: TT & NTT positief.

² Technische resultaten: TT & NTT positief.

³ Technische resultaten: TT positief, geen NTT uitgevoerd.

Technische resultaten van de laboratoria die “Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een laat stadium van infectie, doorgemaakte of behandelde syfilis, of, minder waarschijnlijk, een erg vroege infectie van 1 à 3 weken voordien. Te toetsen aan dossier, voorgaande therapie of kliniek.” geantwoord hebben:

- 1 labo: NTT, 2 totale TT en IgG positief, IgM negatief.
- 4 labo's: NTT en 2 totale TT positief
- 1 labo: NTT borderline, 2 totale TT positief
- 9 labo's: NTT en TT positief
- 1 labo: 2 TT positief
- 5 labo's: TT positief

6.2.4.1.4. Uitvoering in routine

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

- IgM en NTT (wel 2^e NTT en 2 totale TT): 1 labo
- totale TT en NTT (wel 2^e totale TT): 1 labo
- totale TT (wel 2^e totale TT en NTT): 4 labo's
- NTT (wel 2 totale TT): 1 labo
- NTT (wel totale TT): 1 labo
- totale TT (enige test): 1 labo

6.2.4.2. Staal IS/17078, onpare laboratoria

6.2.4.2.1. Niet-treponemale testen

43 laboratoria bekwamen een negatief resultaat, één laboratorium een borderline resultaat en twee een positief resultaat.

6.2.4.2.2. Treponemale testen

a) Resultaten van de testen die de "totale" antistoffen bepalen

Onderstaande tabel geeft een overzicht van de resultaten.

Tabel 6.2.8. Resultaten voor de treponemale testen voor staal IS/17078 (onpare laboratoria).

Resultaat	N labo's
Positief ¹	47
Positief/Borderline	1
Negatief	2
Totaal	50

¹ 16 laboratoria die 2 kits gebruikten bekwamen met beide een positief resultaat

² Eén laboratorium dat 2 kits gebruikte bekwam met beide een verschillend resultaat

Voor de kits met minimum 6 gebruikers die het kwantitatief resultaat geantwoord hebben, hebben we mediaan, minimum en maximum berekend. Deze resultaten worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.2.9. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor de treponemale testen voor staal IS/17078 (onpare laboratoria) voor de meest gebruikte kits.

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off voor positiviteit
Architect Syphilis TP (index)	13	11.18	9.71	12.40	1.00
Liaison Treponema Screen (index)	6	10.9	10.1	13.0	1.1 (0.9 – 1.1 = borderline)
Serodia-TPPA (titer)	15	1/1280	1/160	1/5120	Pos. resultaat in « test well »
Elecsys syphilis (index)	10	43.3	38.5	45.5	1.00

b) Resultaten van de testen die de IgG bepalen.

Het laboratorium bekwam een borderline resultaat.

6.2.4.2.3. Interpretaties

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

Tabel 6.2.10. Interpretatie voor staal IS/17078 (onpare laboratoria)

Interpretatie	Aantal
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een laat stadium van infectie, doorgemaakte of behandelde syfilis, of, minder waarschijnlijk, een erg vroege infectie van 1 à 3 weken voordien. Te toetsen aan dossier, voorgaande therapie of kliniek.	44
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie. Behandeling aangewezen. ¹	1
Geen antilichamen detecteerbaar. ²	1
Bepaling van niet treponemale test is noodzakelijk voor de interpretatie. ³	3
Laboratoria die de interpretatie open laten ³	1
Totaal	50

¹ Technische resultaten: 2 TT & NTT positief.

² Technische resultaten: TT & NTT negatief.

³ Technische resultaten: TT positief, geen NTT uitgevoerd.

6.2.4.2.4. Uitvoering in routine

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

- NTT (wel totale TT): 1 labo

6.2.4.3. Staal IS/17078, pare laboratoria

6.2.4.3.1. Niet-treponemale testen

59 laboratoria bekwamen een negatief resultaat (de laboratoria die twee methoden gebruikte bekwamen met beide een negatief resultaat) en één laboratorium bekwam een positief resultaat.

6.2.4.3.2. Treponemale testen

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat, ongeacht de "aard" (totale As, IgG, IgM) van de test. Laboratoria die meer dan één kit gebruikten, bekwamen met alle kits een negatief resultaat.

6.2.4.3.3. Interpretaties

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

Tabel 6.2.11. Interpretatie voor staal IS/17078 (pare laboratoria)

Interpretatie	Aantal
Geen antilichamen detecteerbaar.	80
Negatieve serologie. Te contoleren binnen 3 weken in geval van vermoeden van een recente infectie. ¹	1
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie. Behandeling aangewezen. ²	1
Totaal	82

¹ Technische resultaten: 2 TT & NTT negatief.

² Technische resultaten: TT negatief en NTT positief

6.2.4.3.4. Uitvoering in routine

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

- IgG, IgM, totale TT en NTT (wel 2^e totale TT): 2 labo's
- totale TT en 2 NTT (wel 2^e totale TT): 1 labo
- totale TT en NTT (wel 2^e totale TT en 2^e NTT): 1 labo
- NTT en 2 totale TT (enige testen): 1 labo
- NTT en totale TT (wel 2^e totale TT): 8 labo's
- totale TT (wel 2^e totale TT en NTT): 4 labo's
- NTT (wel totale TT): 7 labo's

6.2.5. Welke test voert het laboratorium als 1^e uit bij screening

128 laboratoria hebben deze vraag beantwoord.

Tabel 6.2.12. Eerste test uitgevoerd bij screening.

1 ^e test bij screening	N labo's
Treponemaal	81
Treponemaal + niet-treponemaal	45
Niet-treponemaal	2
Totaal	128

6.2.6. Commentaar op de resultaten van het onderzoek

Staal IS/15677 was afkomstig van een patiënt die pre-exposure prophylaxis (PreP) neemt voor HIV, echter zonder symptomen. Het nemen van PreP, kan bij een individu leiden tot een verhoogde frequentie van condoomloze seks en toename in SOIs (1). Daarom wordt volgens de Belgische Prep conventie aangeraden Prep gebruikers drie-maandelijks te screenen voor SOIs. Zowel de TT als de NTT werden door alle labo's als borderline of positief gerapporteerd. De meerderheid van de labo's (70.5%) heeft dit geïnterpreteerd als een actieve syfilis en 15.1% als code 2 (doorgemaakte infectie, laat stadium of zeer vroege syfilis).

Interpretatie wordt in het labo vaak gebaseerd op de NTT-titer. Een hogere titer (>1/4) wordt gezien als suggestief voor een actieve infectie (code 1) en een lagere titer, sluit eerder aan bij antwoordcode 2. Gezien de grote spreidingen in NTT titers, verklaart dit allicht het verschil in interpretatie. Echter zonder een klinische context is dit zeer moeilijk te interpreteren en is voorzichtigheid geboden, zeker wanneer het een asymptomatische hoog-risico patiënt betreft zoals in deze casus. Gepaarde stalen, geanalyseerd met dezelfde kit, zijn noodzakelijk om een adequate interpretatie te kunnen maken. De hoge index/titer van de TT hier is suggestief voor een al reeds langer bestaande (al dan niet behandelde) infectie, maar kan, in onze ervaring, tevens een indicatie zijn voor multipale re-infecties. Zoals gekend, geeft de TT geen informatie over de activiteit van de ziekte en is men aangewezen op de NTT. Bij een positieve TT, kan een positieve NTT een nieuwe actieve infectie zijn of een restant van een reeds behandelde infectie, zelfs bij titers > 1/4. Patiënten met een herhaaldelijke vroege syfilis infectie hebben meestal hogere NTT titers, blijven langer positief of seroreverteren minder vaak t.o.v. patiënten met een initiële infectie (2). Er moet steeds gekeken worden naar de resultaten van een voorgaand staal, klinische informatie (behandeling, antecedenten) en/of de nood aan een opvolgstaal voor correcte interpretatie.

Er zijn grote spreidingen in NTT titers over de methodes heen, maar ook binnen de methode zelf, is er een gekend precisie probleem bij NTT onder andere omwille van de subjectieve aflezing (cfr commentaar enquête 2018/2). Er is een groeiende interesse naar geautomatiseerde, gestandaardiseerde NTT analyses, maar optimalisatie en uitgebreidere evaluaties zijn nodig (3).

Staal IS/17078 (onpare labo's), tevens afgenomen bij een patiënt met verhoogd risico, had een negatief NTT resultaat en een positieve TT, wat meest waarschijnlijk duidt op een reeds behandelde infectie of een zeer vroege infectie. Dit werd door de meerderheid van de labo's

(88.0%) correct geïnterpreteerd. Negatieve NTT door spontane seroreversie (zonder behandeling) in een zeer late syfilisinfectie zouden beschreven zijn, hoewel deze literatuur oud is en deze met de huidige testen misschien niet of minder voorkomen (3). Bij onzekerheid over een eerdere infectie en behandeling, blijft het echter nog steeds aangewezen om patiënten met positieve TT en negatieve NTT te behandelen als zijnde laat latente syfilis. De risico's als gevolg van overbehandeling (weinig tot geen resistentieontwikkeling tegen penicilline bij *Treponema pallidum* en beperkt ongemak bij behandeling) wegen niet op tegen de risico's van ontwikkeling van een tertiaire syfilis. Men moet ook steeds bedacht zijn op vals negatieve NTT te wijten aan een prozone effect, zeker wanneer een TT positief is. Geautomatiseerde treponemale enzymatische immunoassays hebben een hogere gevoeligheid voor vroege syfilisinfectie in vergelijking met de NTT. Staal IS/17078 (pare labo's) toonde een negatief resultaat voor zowel de TT als de NTT. 98.8% van de labo's heeft correct geantwoord als zijnde 'geen antilichamen aanwezig'. Gezien het hoge risico gedrag van deze patiënt, moet er steeds aan gedacht worden dat hij nog in de incubatieperiode (10 tot 90 dagen) zit en seroconversie nog niet heeft plaatsgevonden.

Enkele studies tonen aan dat een herhaaldelijke syfilis infectie zich minder waarschijnlijk zal uiten in symptomatische ziekte ten opzichte van een initiële syfilis infectie (2,4-5). Regelmatige opvolging bij asymptomatische hoog risico patiënten is dus noodzakelijk. Dit betreft voornamelijk sekswerkers en MSM met seksueel hoog risicogedrag. In 2019 werd door het Federaal Kenniscentrum voor de Gezondheidszorg een syntheserapport gepubliceerd omtrent de diagnose en aanpak van gonorrhoe en syfilis met richtlijnen rond testen, behandeling en follow-up (6).

Van den Bossche Dorien, NRC seksueel overdraagbare aandoeningen, Instituut voor Tropische Geneeskunde.

Referenties

1. Taeger MW et al. Effect of pre-exposure prophylaxis for the prevention of human immunodeficiency virus infection on sexual risk behavior in men who have sex with men: a systematic review and meta-analysis. Clin Infect Dis 2018; 67:676-686.
2. Kenyon C et al. Repeat syphilis has a different immune response compared with initial syphilis: an analysis of biomarker kinetics in two cohorts. Sex Transm Infect 2018;94:180–186.
3. Janier M et al. 2020 European guideline on the management of syphilis.
4. Kerani R et al. Is early latent syphilis more likely in patients with a prior syphilis infection? British society for sexual health and HIV. London: Presentation at: 18th international Society for StD research, 28 June-1 July 2009.
5. Courjon J et al. clinical aspects of syphilis reinfection in HiV infected patients. Dermatology 2015; 230:302–7
6. KCE Rapport 310 A. Diagnose en aanpak van gonorrhoe en syfilis. 2019.

EINDE

© Sciensano, Brussel 2020.

Dit rapport mag niet gereproduceerd, gepubliceerd of verdeeld worden zonder akkoord van Sciensano. De individuele resultaten van de laboratoria zijn vertrouwelijk. Zij worden door Sciensano niet doorgegeven aan derden, noch aan de leden van de Commissie, de expertencomités of de werkgroep EKE.