

**BIOLOGISCHE GEZONDHEIDSRISICO'S
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

**COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE
COMITE VAN EXPERTEN**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE VOOR
ANALYSES KLINISCHE BIOLOGIE**

DEFINITIEF GLOBAAL RAPPORT

MICRO/SERO/PARA

ENQUETE 2022/1

Microbiologie

Burkholderia cepacia

Candida albicans

Pseudomonas aeruginosa

Streptococcus canis

Uitstrijkje: gisten

Parasitologie

Entamoeba histolytica/dispar

Hymenolepis nana

Serologie

Borrelia-serologie

Syfilis-serologie

Sciensano/Micro/Sero/Para/132-NL

Biologische gezondheidsrisico's

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
		e-mail	gl_secretariat@sciensano.be		
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. MEEEX 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				

Delen van van dit rapport werden via mail voorgelegd aan de experts vanaf 04/02/2022.

Dit rapport werd besproken in de vergaderingen van het expertencomité van microbiologie en infectieuze serologie: 21/04/2022.

Dit rapport vervangt de vorige versie van het globaal rapport van 25/04/2022.

Autorisatie van het rapport : door Kris Vernelen, enquêtecoördinator

Publicatiedatum : 20/02/2023

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

<https://www.sciensano.be/nl/kwaliteit-van-laboratoria/eke-microbiologie-parasitologie-en-infectieuze-serologie>

I. ALGEMENE BEMERKINGEN	6
II. IDENTIFICATIES.....	7
2.1. Cultuur M/18472 <i>Candida albicans</i>	7
2.2. Cultuur M/18253 <i>Streptococcus canis</i>	15
2.3. Cultuur M/18588 <i>Burkholderia cepacia</i> complex	16
2.4. Cultuur M/18740 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
III. RESULTATEN VAN DE IDENTIFICATIES	22
3.1. Cultuur M/18472 <i>Candida albicans</i> (hemocultuur)	22
3.2. Cultuur M/18523 <i>Streptococcus canis</i> (hemocultuur).....	23
3.3. Cultuur M/18588 <i>Burkholderia cepacia</i> (sputum)	24
3.4. Cultuur M/18740 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (hemocultuur)	25
3.5. Uitstrijkje voor Gramkleuring M/18332 (hemocultuur)	26
IV. ANTIBIOGRAM.....	27
4.1. Cultuur M/18472 (<i>Candida albicans</i>).....	28
4.2. Cultuur M/18740 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>).....	31
V. PARASITOLOGIE.....	37
5.1. De monsters.....	37
5.2. Resultaten voor staal P/18272	38
5.3. Resultaten voor staal P/18846	40
5.4. Commentaar op de enquête.....	41
VI. SEROLOGIE	44
6.1. Borrelia.....	44
6.1.1. Informatie betreffende de verstuurde stalen	44
6.1.2. De deelnemers.....	45
6.1.3. Gebruikte reagentia	46
6.1.3.1. Voor de totale As	46
6.1.3.2. Voor IgG	47
6.1.3.3. Voor IgM	48
6.1.4. Resultaten.....	49
6.1.4.1. Staal S/5664	49
6.1.4.1.1. IgG+M	49
6.1.4.1.2. IgG	49
6.1.4.1.3. IgM.....	49
6.1.4.1.4. Interpretatie.....	49
6.1.4.2. Staal IS/18777, pare labo's	51
6.1.4.2.1. IgG+M	51
6.1.4.2.2. IgG	51
6.1.4.2.3. IgM.....	51
6.1.4.2.4. Interpretatie.....	51
6.1.4.3. Staal IS/18777, onpare labo's	53
6.1.4.3.1. IgG+M	53
6.1.4.3.2. IgG	53
6.1.4.3.3. IgM.....	53
6.1.4.3.4. Interpretatie.....	54
6.1.5. Commentaar op de enquête.....	55
6.2. Syfilis.....	57
6.2.1. De stalen.....	57
6.2.2. De deelnemers.....	57
6.2.3. Gebruikte reagentia	59
6.2.4. Resultaten.....	60
6.2.4.1. Staal IS/18099	60
6.2.4.1.1. Niet-treponemale testen	60
6.2.4.1.2. Treponemale testen.....	60
6.2.4.1.3. Interpretaties.....	61
6.2.4.2. Staal IS/18095	63
6.2.4.2.1. Niet-treponemale testen	63
6.2.4.2.2. Treponemale testen.....	64

6.2.4.2.3. Interpretaties	65
6.2.5. Vraagstelling m.b.t. de gebruikte algoritmes voor syfilis-diagnose.....	67
6.2.6. Commentaar op de resultaten van het onderzoek.....	69

I. Algemene bemerkingen

Voor de 1^e evaluatie van het jaar 2022 (enquête 2022/1) werd volgend materiaal verzonden op 17 januari 2022.

1.1. 4 gelyofiliseerde monsters voor identificatie.

Voor 2 monsters werden de resultaten van de gevoeligheidstesten gevraagd.

1.2. Twee fecesstalen voor parasitologisch onderzoek.

1.3. Twee stalen voor de bepaling van de **syfilis** serologie en **twee stalen** voor de bepaling van de **Borrelia-serologie**. De interpretatie van de syfilis omvat beide stalen samen.

AANTAL DEELNEMERS

Het aantal evalueerbare antwoordbulletins bedroeg:

1.	Voor identificatie en antibiogram:	125
2.	Voor parasitologie:	115
3.	Voor de serologie:	
	syfilis:	128
	Borrelia:	113

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.sciensano.be/nl/kwaliteit-van-laboratoria/eke-microbiologie-parasitologie-en-infectieuze-serologie>

en vervolgens klikt u op "Overzicht verstuurde kiemen"

Parasitologie:

<https://www.sciensano.be/nl/kwaliteit-van-laboratoria/eke-microbiologie-parasitologie-en-infectieuze-serologie>

en vervolgens klikt u "Overzicht verstuurde parasieten"

Infectieuze serologie:

<https://www.sciensano.be/nl/kwaliteit-van-laboratoria/eke-microbiologie-parasitologie-en-infectieuze-serologie>

en vervolgens klikt u op "Lijst van de geëvalueerde parameters infectieuze serologie".

2.1. Cultuur M/18472 *Candida albicans*

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: “In de nasleep van een urosepsis met *K. pneumoniae* behandeld met cefuroxime en nadien ciprofloxacine, vertoont een 83-jarige patiënt 1 paar positieve hemoculturen.

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 de antimicrobiële gevoeligheidstesten uitvoeren indien u dit ook in routine zou uitvoeren.”

Commentaar van het Referentiecentrum Mycoses (R. Sacheli, MP Hayette)

Candida albicans is een gist van de familie Saccharomycetaceae. Hij maakt deel uit van de humane mucosa. Hij is meestal niet pathogeen, maar een hormonale of immuunstoornis kan verantwoordelijk zijn voor een anarchistische vermenigvuldiging en leiden tot lokale candidiasis (genitaal, in de mond of het maagdarmstelsel) of in ernstigere gevallen tot een invasieve candidiasis en kan het leven van de patiënt in gevaar brengen (vooral bij immuungedeprimeerden).

Het is aangeraden om bij een positieve hemocultuur een Gram kleuring uit te voeren. Gisten zijn Gram positief. Ze kunnen voorkomen als gist (ovale blastofoor van 2-4µm +/- knopvorming), als pseudomycelium of als mycelium. Na incubatie op 25-37°C gedurende 24-48u op Sabouraud of bloedagar groeien vette, witachtige kolonies van 1-2mm.

Over het algemeen kan *C. albicans* gemakkelijk geïdentificeerd worden met Maldi-Tof MS vanuit 1 kolonie mits toevoegen van mierenzuur 70%. Scores boven 1.7 met minstens 3 maal hetzelfde resultaat worden als betrouwbaar beschouwd voor identificatie tot op speciesniveau voor *Candida sp.* Multipole studies hebben inderdaad aangetoond dat het verlagen van de cutoff tot 1.7 in plaats van 2, zoals aangeraden door de fabrikant, zou toelaten om het aantal correcte identificaties te verhogen zonder de precisie van de identificatie tot op speciesniveau in het gedrang te brengen [1–3]. In laboratoria die niet over een Maldi-Tof MS, beschikken, kunnen chromogene bodems, zoals bijvoorbeeld de Candi-select van Biorad of de ChromID Candida van bioMérieux helpen bij de identificatie [4]. Een specifieke enzymatische reactie zorgt ervoor dat de *Candida albicans* kolonies een kleur vertonen die eigen is aan de bodem die speciesidentificatie toelaat. Biochemische testen zoals de API32C (bioMérieux) galerij kunnen eveneens gebruikt worden om de identificatie te bevestigen. Het species *C. albicans* onderscheidt zich meer bepaald door zijn vermogen om glucose en maltose te fermenteren en om koolstof te assimileren vanuit xylose, maltose, galactose en trehalose [5]. Met deze fenotypische methoden (cultuur op chromogene media, biochemische testen,) is verwarring met *C. dubliniensis* echter mogelijk [6,7]. *Candida albicans* kan gemakkelijk onderscheiden worden van *C. dubliniensis* met moleculair biologische technieken en met Maldi-Tof MS. De analyse van het proteïneprofiel laat inderdaad gemakkelijk toe om deze verwante species te differentiëren [10]. Het uitvoeren van een PCR die de niet-coderende regio ITS « internal

transcribed spacer » van de gist amplificeert, gevolgd door een sequencing laat eveneens toe het onderscheid tussen beide species te maken. De beide species verschillen inderdaad op het niveau van het genoom en meer bepaald op het niveau van de regio ITS want verschillen op niveau van 20 basen binnen deze regio werden aangetoond [8,9].

124/125 (99,2%) laboratoria hebben **de stam van deze externe controle, correct** geïdentificeerd als *Candida albicans*. Eén laboratorium antwoordde dat het deze analyse in routine uitbesteedt en gaf dus geen antwoord.

Wat betreft de bepaling van de gevoeligheid aan antifungale middelen hebben 46 laboratoria geen antifungigram uitgevoerd: de meerderheid van de laboratoria hebben echter vermeld dat zij in routine geen antifungigram uitvoeren maar dat dit doorgestuurd wordt naar het NRC. Het uitvoeren van een antifungigram op een *C. albicans* stam die uit een hemocultuur geïsoleerd wordt, is inderdaad onontbeerlijk. De recente aanbevelingen voor de behandeling van candidemie raden het gebruik aan van echinocandinen in de eerste lijnsbehandeling [11]. Hoewel het resistentieniveau voor deze klasse van antifungale middelen heel laag is, werd het ontstaan van resistentie reeds aangetoond bij patiënten die voorafgaandelijk behandeld werden met echinocandinen [12]. Deze resistentie is gelinkt aan een mutatie van het gen dat codeert voor de subeenheid Fks1 of Fks2 (Fks2, enkel bij *C. glabrata*) van het glucaan synthase dat leidt tot een vermindering van de affiniteit van het enzyme voor de echinocandinen. Deze mutatie leidt in het algemeen tot een kruisresistentie tegen alle echinocandinen, daarom wordt aangeraden om minstens één echinocandine te testen in geval van een positieve hemocultuur met *Candida* sp. [13,14]. De huidige richtlijnen raden eveneens het gebruik aan van fluconazole in afnemende doses voor invasieve candidiasis. Gezien het verschijnen van resistentiemechanismen tegen de azolen is het uitvoeren van een antifungigram naast een exacte identificatie van primordiaal belang. Er zijn inderdaad wereldwijd multipale mutaties beschreven in het gen ERG11, dat codeert voor 14 α -demethylase dat de synthese van ergosterol toelaat vanuit lanosterol, die verantwoordelijk zijn voor de verhoging van de MIC-waarden bij *Candida* sp. met inbegrip van *C. albicans* [15–17]. Andere resistentiemechanismen zoals overexpressie van ERG11 evenals effluxpompen van het type ABC of MFS zijn eveneens beschreven bij *C. albicans* en andere *Candida* sp.[18]. *Candida krusei* vertoont een constitutieve resistentie tegen fluconazole en *C. glabrata* vertoont een verminderde gevoeligheid voor dit antifungicum, wat het belang van een exacte identificatie benadrukt.

Het is daarenboven belangrijk om over een goede richtlijn voor de interpretatie van de resultaten te beschikken in functie van de gebruikte methode. Voor de diskdiffusie en E-testen, moeten de richtlijnen van de CLSI, (laatst gepubliceerde document is document M60) gebruikt worden. Deze richtlijnen zijn eveneens aanbevolen voor de interpretatie van de

resultaten die bekomen werden met de Sensititre YeastOne (Thermo Fisher) en de Vitek 2 (bioMérieux) ; deze laatste gebruikt inderdaad de kaart AST-YS08 die ontwikkeld werd volgens de CLSI-standaard. De aanbevolen richtlijnen voor de Micronaut-AM (Bruker) zijn daarentegen deze van EUCAST. De EUCAST microdilutie is een Europese techniek die afgeleid werd van de CLSI-methode. Ze onderscheidt zich hiervan door een hogere glucose-concentratie in de cultuurbodem (2% in plaats van 0,2%), een denser inoculum ($1-5 \times 10^5$ UFC in plaats van $0,5-2,5 \times 10^3$ UFC), aflezing door spectrofotometrie en het gebruik van “wells” met een platte bodem. Het valt op te merken dat enkel de niet-gecommercialiseerde microdilutiemethode (Eucast v.7.3.2 of CLSI M27) als referentiemethode beschouwd wordt hoewel vele studies een goede overeenkomst beschreven hebben tussen andere commerciële methoden en de referentiemethode [19–23]. Het gebruik van de richtlijnen die voor de interpretatie van de resultaten door de laboratoria gebruikt werden, kan niet verder besproken worden aangezien deze informatie niet voor alle methoden beschikbaar is.

Van de laboratoria die een antifungigram uitgevoerd hebben, hebben 75/78 (96%) resistentie (R) geantwoord voor **fluconazole** zoals verwacht werd (finaal resultaat gebaseerd op de consensus van verschillende expertlaboratoria). Twee laboratoria hebben intermediair (I) geantwoord (Vitek 2 met CLSI-richtlijnen maar te wijten aan een interpretatiefout want de MIC-waarde bedroeg $16\mu\text{g/ml}$) en één laboratorium antwoordde geen antwoord te kunnen geven in afwezigheid van richtlijnen. De CLSI publiceert wel degelijk richtlijnen voor fluconazole waarbij de stam als resistent beschouwd wordt bij een MIC-waarde $\geq 8\mu\text{g/ml}$ [24]. Methoden als de Micronaut zijn gebaseerd op de EUCAST-richtlijnen die een stam definiëren als resistent tegen fluconazole als de MIC-waarde $>4\mu\text{g/ml}$ is [25,26].

Van de 67 laboratoria die **voriconazole**, getest hebben, hebben er 60 (90%) zoals verwacht de interpretatie R geantwoord, hebben 3 de interpretatie I gegeven en hebben 3 anderen gevoelig (S) geantwoord terwijl 1 laboratorium de bekomen MIC-waarde niet kon interpreteren. De 6 I en S resultaten werden allen bekomen met de Vitek 2 en in 5/6 gevallen werden de EUCAST richtlijnen gevolgd. De firma bioMérieux raadt aan om de resultaten die met de Vitek bekomen worden met de CLSI-richtlijnen te interpreteren: in 5/6 gevallen werden de EUCAST-richtlijnen dus foutief gebruikt. Voor de 3 I resultaten bedroeg de MIC-waarde $2\mu\text{g/ml}$ en deze wordt als R gedefinieerd zowel volgens CLSI als volgens EUCAST. Voor 1 van de S-resultaten bedroeg de MIC-waarde $1\mu\text{g/ml}$ en het laboratorium verklaarde de EUCAST-richtlijnen te gebruiken; het betreft dus opnieuw een interpretatiefout van het betrokken laboratorium. De CLSI definieert een stam als R tegen voriconazole als de MIC-waarde $\geq 1\mu\text{g/ml}$ is. De EUCAST-richtlijnen definiëren een stam als R tegen voriconazole als de MIC-waarde $>0.25\mu\text{g/ml}$ is.

Voor **itraconazole**, geven de CLSI M60 richtlijnen geen interpretatie maar gezien de hoge bekomen MIC-waarden (hoofdzakelijk $\geq 1\mu\text{g/ml}$), kan men veronderstellen dat de stam resistent is tegen dit antifungicum, hoewel in de praktijk, er geen interpretatie van de resultaten

gegeven mag worden bij gebruik van deze richtlijnen. EUCAST definieert een stam als R tegen itraconazole als de MIC-waarde $>0.06\mu\text{g/ml}$ is. 25/28 (89,2%) van de laboratoria hebben R geantwoord, één laboratorium S (MIC =1 mg/mL) met microdilutie en CLSI maar het laboratorium preciseerde in een commentaar dat de CLSI geen breekpunten definieert, het betreft dus een encoderingsfout) en één laboratorium gaf geen interpretatie. 13/28 laboratoria hebben verklaard de M60 CLSI richtlijnen te gebruiken en ze hadden dus geen interpretatie mogen geven voor itraconazole. Bovendien, gezien het een hemocultuur betreft, is er geen belang om itraconazole te testen gezien het gebruik van dit antifungicum niet aangeraden wordt voor de behandeling van een candidemie.

Voor **posaconazole**, laten de CLSI M60 richtlijnen evenmin de interpretatie van MIC-waarden toe. Gezien de bekomen MIC-waarden is het echter wel waarschijnlijk dat de stam R is tegen posaconazole. EUCAST definieert een stam als R tegen posaconazole vanaf een MIC-waarde van $>0.06\mu\text{g/ml}$. 21/26 (81,3%) laboratoria hebben de stam als R tegen posaconazole geantwoord, 2 antwoordden S (microdilutie en CLSI met MIC-waarden van 0.5 en $1\mu\text{g/ml}$) en 3 gaven geen interpretatie. 11/26 laboratoria verklaarden de CLIS richtlijnen te gebruiken voor de interpretatie van de resultaten. Bij afwezigheid van een drempelwaarde van de CLSI, zou er geen resultaat mogen geantwoord worden. Over het algemeen worden de resultaten voor posaconazole niet doorgegeven voor *Candida* sp. gezien het gebruik van dit antibioticum niet aangeraden wordt voor de behandeling van een candidemie.

Voor **amfotericine B** waarvoor de CLSI geen richtlijnen heeft, zijn de bekomen MIC-waarden over het algemeen zeer laag wat laat vermoeden dat de geteste *C. albicans* stam S is. De EUCAST-richtlijnen definiëren een stam als R bij een MIC-waarde $>1\mu\text{g/ml}$. 58/61 (95%) laboratoria gaven een antwoord S, één laboratorium gaf een antwoord I (MIC = $1\mu\text{g/ml}$ met microdilutie en CLSI) en 2 laboratoria gaven geen interpretatie. 16/61 laboratoria verklaarden de CLSI-richtlijnen te gebruiken voor de interpretatie van de resultaten en bij afwezigheid van breekpunten hadden deze dus niet geïnterpreteerd mogen worden.

De stam werd gekarakteriseerd als gevoelig voor de **echinocandinen**, 57/63 (90%) van de laboratoria gaven een antwoord S voor **caspofungine**, één laboratorium gaf een antwoord I (met microdilutie en CLSI) en 4 laboratoria antwoordden R (4/4 met microdilutie en EUCAST, met MIC-waarden 2 x 0.12 mg/L; 0.125 mg/L; ≥ 8 mg/L). Voor **anidulafungine**, hebben 35/43 (81.9%) laboratoria S geantwoord, « één laboratorium I (microdilutie en CLSI) en 6 anderen R (6/6 met microdilutie en EUCAST). 7/7 (100%) laboratoria die micafungine getest hebben, hebben S geantwoord zoals verwacht werd. Zoals reeds hoger beschreven is de resistentie tegen echinocandinen eerder zeldzaam bij *C. albicans* en vereist systematisch een bevestiging van de identificatie door het NRC. De verklaring waarom een minderheid van de laboratoria een resistent profiel voor anidulafungine en caspofungine geantwoord hebben, lijkt het gebruik van microdilutie met EUCAST-richtlijnen voor de interpretatie te zijn. De resultaten R voor de echinocandinen (zowel voor caspofungine als voor anidulafungine) werden inderdaad bekomen met microdilutie met exclusief gebruik van de EUCAST-richtlijnen. Deze richtlijnen

definiëren een stam als R tegen anidulafungine als de MIC-waarde groter is dan 0.03µg/ml. 5/6 MIC-waarden die als R geantwoord werden voor anidulafungine zijn eerder laag (3 x 0.12 µg/ml; 0.125 µg/ml; 0.25 µg/ml; ≥8 µg/ml) evenals 3/4 MIC-waarden voor caspofungine (2 x 0.12 mg/L; 0.125 mg/L; ≥8 mg/L). De CLSI-richtlijnen definiëren *C. albicans* als gevoelig aan anidulafungine/caspofungine tot MIC-waarden ≤0.25µg/ml. In het licht van de hierboven beschreven resultaten kunnen we veronderstellen dat de interpretatie gedefinieerd door EUCAST het aantal stammen die echt R zijn tegen echinocandinen een beetje zou kunnen overschatten. Er moet eveneens nagegaan worden of het laboratorium de juiste richtlijnen gebruikt heeft voor de gebruikte methode. Deze factor kan niet geëvalueerd worden in dit rapport wegens onvoldoende gegevens. Een sequencing met opsporen van mutaties ter hoogte van het gen Fks zou kunnen toelaten om na te gaan of het gaat om stammen die echt resistent zijn tegen de echinocandinen of een overschatting gelinkt aan het gebruik van de EUCAST-richtlijnen (of het gebruik van verkeerde richtlijnen in functie van de gebruikte methode). Dit lijkt het meest waarschijnlijk in het licht van de resultaten die door de meerderheid van de laboratoria bekomen werden. Een studie heeft overigens reeds het uitstekende vermogen aangetoond van de Sensititre YeastOne en de CLSI microdilutie om stammen op te sporen die resistent zijn tegen echinocandinen waarbij de sequencing van het Fks als gouden standaard beschouwd werd[27,28].

De laboratoria hebben diffusietechnieken op vaste bodem (type E-test, MIC test strip), microdilutie technieken (Sensititre, Micronaut, andere) of de Vitek gebruikt voor de bepaling van de MIC-waarden. Eén enkel laboratorium heeft papieren schijfjes gebruikt en 2 laboratoria de Neosensitab schijfjes.

Na analyse, kan men niet echt één methode aanduiden die betere resultaten geeft dan de andere. Merken we wel op dat de Vitek, meer bepaald voor voriconazole, 2 foutieve S resultaten oplevert door interpretatiefouten van de laboratoria. Dit laat een lacune in deze methode voor de bepaling van de gevoeligheid voor dit antifungicum veronderstellen. Een literatuurstudie toont nochtans een goede overeenkomst aan tussen de Vitek en de microdilutiemethoden voor *Candida* sp. in het algemeen[19–21,30].

50/125 (40%) laboratoria hebben op de vraag of deze stam in routine naar het NRC zou doorgestuurd worden geantwoord dat de stam niet zou doorgestuurd worden. Gezien het atypische resistentieprofiel voor der azolén van deze *C. albicans* stam, is doorsturing naar het referentiecentrum sterk aanbevolen. Inderdaad volgens een recente studie vertoont *C. albicans* een resistentie percentage van de grootteorde van 0.6 à 1.7% tegen azolen wat doorsturing naar het NRC rechtvaardigt als er resistentie tegen deze klasse van antifungica wordt vastgesteld ongeacht de origine van de afname [31].

Rdefeerenties

1. Ghosh AK, Paul S, Sood P, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for the rapid identification of yeasts causing bloodstream infections. *Clin Microbiol Infect.* **2015**; .
2. Normand AC, Gabriel F, Riat A, et al. Optimization of MALDI-ToF mass spectrometry for yeast identification: A multicenter study. *Med Mycol.* **2019**; .
3. Fraser M, Brown Z, Houldsworth M, Borman AM, Johnson EM. Rapid identification of 6328 isolates of pathogenic yeasts using MALDI-ToF MS and a simplified, rapid extraction procedure that is compatible with the Bruker Biotyper platform and database. *Med Mycol.* **2016**; .
4. Sendid B, François N, Standaert A, et al. Prospective evaluation of the new chromogenic medium CandiSelect 4 for differentiation and presumptive identification of the major pathogenic *Candida* species. *J Med Microbiol.* **2007**; .
5. Qadri SMH, Nichols CW. Tube carbohydrate assimilation method for the rapid identification of clinically significant yeasts. *Med Microbiol Immunol.* **1978**; .
6. Jan A, Bashir G, Altaf I, Fomda BA, Hamid S, Jan K. Evaluation of various phenotypic methods for differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *J Microbiol Methods.* **2022**; .
7. Sullivan D, Coleman D. *Candida dubliniensis*: Characteristics and identification. *J. Clin. Microbiol.* 1998.
8. Mähniß B, Stehr F, Schäfer W, Neuber K. Comparison of standard phenotypic assays with a PCR method to discriminate *Candida albicans* and *C. dubliniensis*. *Mycoses.* **2005**; .
9. Williams DW, Coulter WA, Wilson MJ, Potts AJC, Lewis MAO. Identification of *Candida dubliniensis*, based on ribosomal DNA sequence analysis. *Br J Biomed Sci.* **2001**; .
10. Hof H, Eigner U, Maier T, Staib P. Differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans* by means of MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Clin Lab.* **2013**; .
11. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* 2015.
12. Coste AT, Kritikos A, Li J, et al. Emerging echinocandin-resistant *Candida albicans* and *glabrata* in Switzerland. *Infection.* **2020**; .
13. Arendrup MC, Perlin DS. Echinocandin resistance: An emerging clinical problem? *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2014.
14. Perlin DS. Echinocandin Resistance in *Candida*. *Clin Infect Dis.* **2015**; .
15. Xiang MJ, Liu JY, Ni PH, et al. Erg11 mutations associated with azole resistance in clinical isolates of *Candida albicans*. *FEMS Yeast Res.* **2013**; .
16. Liu JY, Shi C, Wang Y, Li WJ, Zhao Y, Xiang MJ. Mechanisms of azole resistance in

- Candida albicans* clinical isolates from Shanghai, China. *Res Microbiol.* **2015**; .
17. Flowers SA, Colón B, Whaley SG, Schuler MA, David Rogers P. Contribution of clinically derived mutations in ERG11 to azole resistance in *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother.* **2015**; .
 18. Whaley SG, Berkow EL, Rybak JM, Nishimoto AT, Barker KS, Rogers PD. Azole antifungal resistance in *Candida albicans* and emerging non-*albicans* *Candida* Species. *Front. Microbiol.* 2017.
 19. Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Alastruey-Izquierdo A, et al. Comparison of the Vitek 2 antifungal susceptibility system with the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) broth microdilution reference methods and with the Sensititre YeastOne and Etest techniques for in vitro detection of antifungal resistance in yeast isolates. *J Clin Microbiol.* **2010**; .
 20. Posteraro B, Martucci R, Sorda M La, et al. Reliability of the vitek 2 yeast susceptibility test for detection of in vitro resistance to fluconazole and voriconazole in clinical isolates of *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *J Clin Microbiol.* **2009**; .
 21. Melhem MSC, Bertoletti A, Lucca HRL, Silva RBO, Meneghin FA, Szeszs MW. Use of the VITEK 2 system to identify and test the antifungal susceptibility of clinically relevant yeast species. *Brazilian J Microbiol.* **2013**; .
 22. Espinel-Ingroff A. Etest for antifungal susceptibility testing of yeasts. *Diagn Microbiol Infect Dis.* **1994**; .
 23. Meletiadiis J, Mouton JW, Meis JFGM, et al. Comparison of the Etest and the Sensititre colorimetric methods with the NCCLS proposed standard for antifungal susceptibility testing of *Aspergillus* species. *J Clin Microbiol.* **2002**; .
 24. CLSI. Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 2nd ed. CLSI supplement M60. Clin Lab Stand Inst. **2020**; .
 25. Arendrup MC, Cuenca-Estrella M, Lass-Flörl C, Hope WW. Breakpoints for antifungal agents: An update from EUCAST focussing on echinocandins against *Candida* spp. and triazoles against *Aspergillus* spp. *Drug Resist. Updat.* 2013.
 26. Arendrup MC, Cuenca-Estrella M, Lass-Flörl C, et al. EUCAST technical note on the EUCAST definitive document EDef 7.2: Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts EDef 7.2 (EUCAST-AFST). *Clin Microbiol Infect.* **2012**; .
 27. Kritikos A, Neofytos D, Khanna N, et al. Accuracy of Sensititre YeastOne echinocandins epidemiological cut-off values for identification of FKS mutant *Candida albicans* and *Candida glabrata*: a ten year national survey of the Fungal Infection Network of Switzerland (FUNGINOS). *Clin Microbiol Infect.* **2018**; .
 28. Pfaller MA, Diekema DJ, Andes D, et al. Clinical breakpoints for the echinocandins and *Candida* revisited: Integration of molecular, clinical, and microbiological data to arrive at

- species-specific interpretive criteria. Drug Resist Updat. **2011**; .
29. Espinel-Ingroff A, Alvarez-Fernandez M, Cantón E, et al. Multicenter Study of Epidemiological Cutoff Values and Detection of Resistance in *Candida* spp. to Anidulafungin, Caspofungin, and Micafungin Using the Sensititre YeastOne Colorimetric Method. Antimicrob Agents Chemother. **2015**; .
 30. Vijgen S, Nys S, Naesens R, Magerman K, Boel A, Cartuyvels R. Comparison of Vitek identification and antifungal susceptibility testing methods to DNA sequencing and Sensititre YeastOne antifungal testing. Med Mycol. **2010**; .
 31. Bassetti M, Vena A, Bouza E, et al. Antifungal susceptibility testing in *Candida*, *Aspergillus* and *Cryptococcus* infections: are the MICs useful for clinicians? Clin. Microbiol. Infect. 2020.

2.2. Cultuur M/18253 *Streptococcus canis*

Streptococcus canis behoort tot de groep β -hemolytische streptococci met Lancefield groep G als antigeen. *S. canis* geeft voornamelijk aanleiding tot infecties bij honden en katten en wordt zelden bij mensen geïsoleerd. Wanneer dit toch bij mensen wordt teruggevonden, is er vaak contact geweest met honden. Weke delen infectie en bacteriëmie werden reeds beschreven, vaak bij patiënten met diabetes, neoplasie of cardiovasculaire risicofactoren (1).

S. pyogenes, *S. dysgalactiae* en *S. canis* onderscheiden met Matrix Assisted Laser Desorption-Time of Flight (MALDI-TOF) methode kan een uitdaging zijn. Wanneer de analyse met een Bruker MALDI-TOF gebeurt, wordt er automatisch in de resultatenoutput de melding gemaakt: 'Species canis/dysgalactiae/equi/pyogenes of the genus Streptococcus have very similar patterns'. MALDI-TOF van BioMérieux (VITEK® MS) heeft geen specifieke melding bij identificatie van *S. canis*.

Er werden in totaal 12 foutieve antwoorden gegeven. Zes laboratoria antwoordden foutief *Streptococcus dysgalactiae*, 6 *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*. Vier laboratoria gebruikten MALDI-TOF Bruker, 2 identificaties gebeurden met API, 1 met Microscan, 2 met de klassieke methode en 3 werden geïdentificeerd met Vitek ID card.

Streptococcus dysgalactiae is een pathogeen die zowel bij dieren als mensen kan voorkomen. De klinische presentatie is vaak gelijkaardig als deze van de groep A streptococci. *S. dysgalactiae* wordt onderverdeeld in *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* en *S. dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae*.

In een recent artikel van Nybakken et al. werden *S. dysgalactiae* en *S. canis* stammen geïdentificeerd met 16S rRNA sequencing en vergeleken met het MALDI-TOF (Bruker) resultaat. Alle *S. canis* (n=109) stammen werden correct geïdentificeerd met MALDI-TOF. Van de 217 *S. dysgalactiae* isolaten werd er 1 foutief geïdentificeerd als *S. canis* met consistency category A (2).

Onze resultaten tonen een foutieve identificatie van 9.6%. In totaal waren er 4 foutieve MALDI-TOF Bruker identificaties, wat overeenkomt met 5.5% (4/72) foutieve identificaties bij de Bruker gebruikers. Alle 26 VITEK® MS gebruikers hadden een correcte identificatie.

Het referentiecentrum voor β -hemolytische streptococci adviseert om onderscheid te maken tussen *S. canis* en *S. dysgalactiae*, zeker indien het een invasief staal betreft. Invasieve (potentiële) *S. canis* stammen kunnen naar hen worden opgestuurd voor verdere verificatie. Hiervoor kan *Streptococcus* species worden aangeduid op het NRC aanvraagformulier. Er wordt steeds een emm-typing uitgevoerd. Indien geen gen coderend voor een M-proteïne gedetecteerd wordt, is dit suggestief voor *S. canis*. Een 16S rRNA sequencing kan dit bevestigen.

In conclusie kunnen MALDI-TOF Bruker resultaten niet aanvaard worden zonder verdere verificatie/validatie.

Referenties

1. Galperine T, Cazorla C, Blanchard E, Boineau F, Ragnaud JM, Neau D. Streptococcus canis infections in humans: retrospective study of 54 patients. J Infect. 2007;55(1):23-6.
2. Nybakken EJ, Oppegaard O, Gilhuus M, Jensen CS, Mylvaganam H. Identification of Streptococcus dysgalactiae using matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry; refining the database for improved identification. Diagn Microbiol Infect Dis. 2021;99(1):115207.

2.3. Cultuur M/18588 *Burkholderia cepacia* complex

De verzonden stam was een *Burkholderia cenocepacia*, maar zonder DNA-analyse (zie hieronder) zou zo'n stam als *Burkholderia cepacia* complex moeten worden gerapporteerd. Het genus *Burkholderia* bevat nu meer dan 100 species van aerobe niet sporen-vormende Gram negatieve staafjes, waarvan de meerderheid uit de bodem en water werden gekweekt. Verscheidene species werden uit humane stalen gekweekt, maar enkel het *Burkholderia cepacia* complex (BCC), *B. gladioli*, *B. mallei* en *B. pseudomallei* worden als humane pathogenen beschouwd.

Door hun capaciteit om in waterige omgeving te overleven zijn *Burkholderia* species problematisch als opportunistische nosocomiale pathogenen in ziekenhuizen en andere gezondheidscontexten. Dankzij hun intrinsieke resistentie tegen antibiotica en ontsmettingsmiddelen worden deze bacteriën teruggevonden vaak ter gelegenheid van uitbraken in gecontamineerde farmaceutische preparaten, medische hulpmiddelen en producten, zoals mondspoelingen, echografiegels, ontsmettingsmiddelen van de huid en topische geneesmiddelen.

Binnen dit genus is de BCC bijzonder gevreesd bij mucoviscidose patiënten. Deze groep van nauw verwante species telt tegenwoordig 24 species. Epidemiologische studies, met genotypische onderzoeken bij deze patiënten hebben aangetoond dat sommige klonen van BCC zich onder muco patiënten kunnen verspreiden en een snelle achteruitgang van de longfunctie veroorzaken, soms het "cepacia syndroom" genoemd, leidend tot isolatie t.o.v. niet gekoloniseerde patiënten. BCC kolonisatie is ook geassocieerd met een hogere morbiditeit en mortaliteit na longtransplantatie, leidend tot exclusie van deze patiënten van deze therapeutische mogelijkheid. Terwijl *B. cenocepacia* en *B. dolosa* lijken virulenter te zijn wacht men nog op resultaten van vergelijkende uitkomststudies om te besluiten of de slechtere prognose species of eerder met specifieke klonen gerelateerd is. Surveillance van de BCC wordt ter hoogte door de twee laboratoria van de NRC BCC uitgevoerd: het is aangewezen om alle isolaten van genus *Burkholderia* naar het UZ-Brussel te verzenden voor een snelle karakterisatie en antibioticagevoeligheidstesten. Nadien worden de stammen naar UGent doorverwezen voor *recA* sequentie en MLST typering om met zekerheid de species en de verwantschap van de isolaten te bepalen. Dit is belangrijk omdat de identificatie technieken niet betrouwbaar zijn tot op species niveau. De MALDI-TOF massaspectrometrie is betrouwbaar tot op het niveau van de *Burkholderia cepacia* complex (BCC), maar niet tot op het niveau van de species. In deze EKE werd een *B. cenocepacia* ingesloten en 47 laboratoria hebben *Burkholderia cepacia* complex (BCC) gerapporteerd, terwijl een verdere identificatie niet betrouwbaar is, zoals aangetoond door het rapporteren van *B. cepacia* door 16.8% van de laboratoria. Eén laboratorium maakte een grote fout door een *B. mallei* te rapporteren. Slechts 53 van de 125 laboratoria zouden de stam naar het NRC verzenden, terwijl men duidelijk vermeldde dat ze van een mucoviscidose patiënt afkomstig was, maar dit is wellicht te verklaren door het feit dat deze patiënten door gespecialiseerde centra worden behandeld, die wel het belang hiervan kennen.

Mucoviscidose patiënten kunnen ook door een species gekoloniseerd worden die niet tot BCC behoort, namelijk door *B. gladioli*. Naast deze species zijn er nog twee species die van groot belang zijn in de geneeskunde wegens ernstige klinische presentatie: *B. pseudomallei*, de oorzaak van melioidose en *B. mallei*, de verwekker van kwade droes (glanders), twee biosafety level 3 micro-organismen die met hoogste voorzorgsmaatregelen moeten worden gemanipuleerd en door het labo van Sciensano bevestigd.

Burkholderia species groeien op routine media zoals MacConkey agar, maar voor mucoviscidose patiënten raadt men aan om selectieve media te gebruiken om overgroei door andere flora, o.a. *P. aeruginosa*, te vermijden. Verscheidene media zijn commercieel beschikbaar en zouden systematisch moeten gebruikt voor de follow-up van mucoviscidose patiënten. Het is inderdaad belangrijk om kolonisatie snel te detecteren om striktere infectie preventie maatregelen te treffen.

BCC species zijn een van de meest antibiotica resistent bacteriën. Ze zijn intrinsiek resistent aan aminoglycosiden, polymyxines en zijn vaak resistent aan de meeste andere antibiotica klassen. Een studie van het NRC heeft aangetoond dat meer dan 80% van de stammen in vitro gevoelig zijn voor trimethoprim-sulfamethoxazole en ceftazidime-avibactam, meer dan 50% t.o.v. temocillin, ceftazidime, piperacilline-tazobactam en meropenem en ceftolozane-tazobactam. Er moet onderlijnd worden dat deze resultaten in vitro niet gecorreleerd werden

met klinische gegevens en EUCAST stelt vast dat het onmogelijk is om breekpunten te bepalen voor een micro-organisme die bijna exclusief in mengkweken en binnen biofilms wordt teruggevonden. MIC waarden kunnen gegeven worden zonder interpretatie en de clinici zullen elke patiënt individueel moeten beoordelen, op basis van in vitro gegevens, voorafgaande klinische respons en eigen ervaring.

D; Pierard; I. Wybo, UZ VUB

Guidance document: Antimicrobial susceptibility testing of Burkholderia cepacia complex (BCC) [BCC susceptibility testing_130719.pdf \(eucast.org\)](#)

2.4. Cultuur M/18740 *Pseudomonas aeruginosa*

Het betreft een *Pseudomonas aeruginosa* stam die geïsoleerd werd uit de hemocultuur van een immuungedepriëerde patiënt. De stam is high level resistent tegen piperacilline/tazobactam (PTZ), de 3^e generatie (ceftazidime) en 4^e generatie (cefepime) cefalosporines, ceftazidime/avibactam (CAZ/AVB), ceftolozan/tazobactam (CTL/TZB) en de carbapenems (imipenem en meropenem), terwijl ze gevoelig blijft aan een verhoogde posologie van aztreonam (ATM) volgens de 2022 versie van de EUCAST-richtlijnen. Deze stam wordt beschouwd als multiresistent (MDR) gezien ze ook resistent is tegen fluorochinolonen (ciprofloxacine) en aminoglycosiden (amikacine en tobramycine). Dit resistentie profiel tegen beta-lactams is typisch voor een *P. aeruginosa* stam die producer is van een carbapenemase (CPPA) van het type VIM. Daarnaast is de stam gevoelig voor colistine, fosfomycine en cefiderocol (therapeutische opties van de laatste lijn).

Het carbapenemase van type VIM (voornamelijk VIM-2) is momenteel het enzym dat het meest frequent aangetroffen wordt bij CPPA. De grote meerderheid (95%) van deze CPPA toont vaak een high level resistentie-expressie tegen carbapenems met een MIC voor meropenem van >8 µg/ml. Een VIM-positieve stam, die deel uitmaakt van de metallo-β-lactamasen (MBL) van klasse B van Ambler, is altijd resistent tegen antibiotica met inhibitoren van β-lactamasen van klasse A/B/D waaronder de combinaties CTL/TZB en CAZ/AVB, terwijl 2/3 van de CPPA gevoelig blijven voor aztreonam (in afwezigheid van andere resistentiemechanismen tegen aztreonam).

Het verschijnen en de verspreiding van multiresistente *P. aeruginosa* (MDR) stammen en stammen die die uiterst resistent zijn tegen antibiotica (XDR) vormen om meerdere redenen ernstige problemen voor de volksgezondheid. Vooreerst veroorzaakt *P. aeruginosa* ernstige infecties, meer bepaald in zorginstellingen bij immuungedepriëerde patiënten. Vervolgens heeft hij een uitzonderlijk vermogen tot selectie en verspreiding van antimicrobiële resistentie in vivo ofwel via de horizontale transfer van mobiele resistentie-elementen, ofwel via de verticale verspreiding van “hoog risico” klonen. Ten slotte vormt het gebrek aan therapeutische alternatieven voor de behandeling van de infecties veroorzaakt door deze MDR/XDR een belangrijke belasting wat betreft morbiditeit en mortaliteit. De WHO vermeldt sinds 2017 *P. aeruginosa* die resistent zijn tegen carbapenems in de groep kiemen met “kritisch belang” waarvoor de productie van nieuwe antibiotica een urgentie vormt [1].

De laatste decennia werden er verschillende definities van MDR profielen van *P. aeruginosa* gebruikt, wat de opvolging en de vergelijking van de surveillance in functie van de tijd bemoeilijkt. Momenteel, met gebruik te maken van de nieuwe definities van de categorieën SIR van EUCAST (versie vanaf 2020) [2], is MDR volgens de Europese EARS-Net surveillance (invasieve stammen) gedefinieerd als resistentie tegen minstens één product van minstens 3 klassen van antibiotica tussen de volgende 5 geteste antibiotica groepen: piperacilline/tazobactam, ceftazidime, carbapenems, aminoglycosiden, fluorochinolonen [3]. De Belgische NSIH-AMR surveillance (hospitaalstammen van klinische afnamen) heeft de MDR criteria gelijkaardig aan deze van EARS-Net geherdefinieerd met als voornaamste verschil de uitsluiting van piperacilline/tazobactam [4]. De prevalentie van *P. aeruginosa* MDR ligt momenteel rond de 15% in Europa met belangrijke geografische verschillen. In België toonden de surveillances van EARS-Net en NSIH-AMR MDR-levels voor *P. aeruginosa* aan van 5.9% en van 6.2% respectievelijk in 2019 [3, 4], levels die stabiel blijven met alle interpretatielimieten van deze gegevens.

De analyse van de moleculaire epidemiologie van de klinische en omgevings-isolaten van *P. aeruginosa* toont over het algemeen een grote klonale diversiteit aan. Hoewel deze observatie echter voornamelijk waar is voor isolaten die gevoelig zijn aan antibiotica, werden “hoog risico” klonen geïdentificeerd onder de MDR/XDR stammen die wereldwijd verantwoordelijk zijn voor epidemieën in ziekenhuizen [5]. In België heeft de moleculaire karakterisatie van 65 *P. aeruginosa* stammen die het VIM carbapenemase produceren en verzameld werden in 27 Belgische hospitalen tijdens de surveillance studie van 2016 [6] de persisterende predominantie aangetoond van ST111 (serotype O12) en ST235 (serotype O11) die sterk verspreid zijn in de Belgische ziekenhuizen (met geïdentificeerde epidemische clusters): en deze komen overeen met de internationale hoog risico klonen (Stam M18740 maakt deel uit van kloon ST111). Desalniettemin is de pathogeniciteit van deze klonen “epidemisch hoog risico” variabel en wordt deze nog sterk bediscussieerd [7].

Wat betreft de diagnose van de productie van carbapenemase op kolonies, herhalen we dat vele testen die gebruikt worden voor de diagnose van *Enterobacterales* die carbapenemase (CPE) produceren, zoals de hydrolyse van de carbapenems door colorimetrische testen of MALDI-TOF MS, de immunochromatografische testen voor de detectie van specifieke antigenen of de moleculaire testen, eveneens geschikt zijn voor de screening en de bevestiging van de aanwezigheid van de belangrijkste carbapenemasen van het type MBL bij de CPPA (VIM, IMP, NDM...). De hydrolyse van het carbapenem heeft een uitstekende gevoeligheid en een specificiteit van >95% voor de detectie van MBL bij CPPA, maar hun gevoeligheid is matig voor de zeldzame non-MBL carbapenemase bijvoorbeeld van het type GES [8]. De immunochromatografische testen hebben in theorie een maximale gevoeligheid en specificiteit maar ze kunnen soms bepaalde varianten van de carbapenemasen missen die niet gedekt worden door de monoclonale antilichamen die opgenomen zijn in de test [9]. Er wordt verwacht dat hun frequentere gebruik bijdraagt aan de verbetering van de performantie en de detectiesnelheid van de CPPA door de microbiologische laboratoria. De diskdiffusietesten voor een carbapenem met of zonder carbapenemase inhibitoren van klasse B (vb : imipenem ±EDTA, meropenem ±DPA) laten de detectie van een CPPA en een oriëntatie in de richting van een MBL toe met over het algemeen een uitstekende gevoeligheid >95% maar een matige specificiteit [10], hetgeen vaak de bevestiging met een andere techniek noodzakelijk maakt. We moeten opmerken dat het gebruik van een gelijkaardige test met een carbapenemase inhibitor van klasse A van het type KPC (boronisch zuur) af te raden is voor de *P. aeruginosa* wegens het groot risico op vals positiviteit wegens de hyperproductie van het cefalosporinase AmpC en de afwezigheid van KPC bij *P. aeruginosa* in onze gewesten.

Wat betreft de preventie van de transmissie van de MDR *P. aeruginosa*, blijven de internationale richtlijnen zeer heterogeen in afwezigheid van een consensus. Volgens het laatste advies van de Hoge Gezondheidsraad [11], wordt aangeraden om isolatie en bijkomende contactmaatregelen in te stellen voor een gehospitaliseerde patiënt die drager is van een MDR *P. aeruginosa* (vooral een carbapenemase) na evaluatie van het lokale risico. Daarenboven vereisen enkel de clusters/epidemie in risico-eenheden (bv ICU, getransplanteerden en immuungedepriemeerden) uitvoeren van screeningsafnames (respiratoire en cutaneomucosale sites) en een bijzondere aandacht voor de reinigingsmaatregelen – desinfectie van de omgeving die een vochtig reservoir kan vormen die de transmissie van sommige niet gecontroleerde epidemieën kan bevorderen.

De behandeling van MDR *P. aeruginosa* vormt steeds een uitdaging met vaak slechts beperkte mogelijkheden. De keuze van de antibiotica moet gebaseerd zijn op de overblijvende gevoeligheid (met bepaling van de MIC-waarden) van de klassieke anti-Pseudomonas middelen en de associatie van verschillende antibiotica is vaak noodzakelijk (met een hogere klinisch efficiëntie dan de monotherapie). Men kan de toediening overwegen van hoog gedoseerd aztreonam in associatie voor de behandeling van CPPA die een MBL produceert, in afwezigheid van andere resistentie-mechanismes tegen β -lactams. De aminoglycosiden kunnen ook in associatie gebruikt worden als ze actief zijn tegen MDR/XDR stammen van *P. aeruginosa*. We moeten opmerken dat op basis van de PK-PD en in tegenstelling tot tobramycine en amikacine, gentamicine een anti-Pseudomonas activiteit heeft die onvoldoende geacht wordt (epidemiologische drempel ECOFF =8 mg/l) voor klinische efficiëntie, hetgeen verklaart waarom het verwijderd werd uit de klinische interpretatie (IE) in de huidige versie van EUCAST [2]. Fosfomycine is, gezien zijn bactericide activiteit, in combinatietherapie een andere mogelijkheid via IV toediening, maar de resistentie is frequent met inbegrip van resistentie-ontwikkeling tijdens de behandeling [12].

De laatste jaren zijn vanuit de combinatie van oude en nieuwe antibacteriële middelen 2 nieuwe anti-Pseudomonas antibiotica ontwikkeld voor de behandeling van MDR/XDR *P. aeruginosa*. Ceftolozaan-tazobactam (CTL/TZB) is een efficiënte associatie die ceftolozaan met een efficiëntere inhibitie van het chromosomale cefalosporinase Amp, zelfs in geval van hyperproductie door *P. aeruginosa*, combineert met tazobactam dat de andere β -lactamasen van klasse A en D inhibeert. Ceftazidime-avibactam (CAZ/AVB) is een andere nieuwe therapeutische optie. Avibactam werkt als een breed spectrum inhibitor tegen de enzymen (waaronder sommige carbapenemasen) van klasse A, C en D en herstelt de activiteit van ceftazidime met vermijden van de hydrolyse (voornamelijk door AmpC) bij *P. aeruginosa*. Hoewel de beide associaties (CTL/TZB en CAZ/AVB) een goede activiteit vertonen (gevoeligheid van 60%-70% volgens de gegevens van het NRC BGNMR) tegen de MDR/XDR

(non-MBL) *P. aeruginosa* stammen, zijn ze daarentegen inactief tegen de carbapenémases [12].

Voor de behandeling van de XDR *P. aeruginosa* die vaak CPPA MBL producers zijn en die resistent zijn tegen deze nieuwe antibiotica die vaak duur of weinig beschikbaar zijn, blijft colistine (behorend tot de polymyxines) vaak de enige klassieke molecule in de laatste lijn. Sinds enkele jaren vormen de gevoeligheidsdrempels van colistine een discussiepunt zowel binnen EUCAST als binnen de CLSI die bepaalde limieten opgesteld hebben voor zijn klinisch gebruik. Eerst werd de klinische gevoeligheidsdrempel voor *P. aeruginosa* teruggezet op ≤ 4 mg/l (=ECOFF) om te vermijden de wild type populatie te splitsen en door de slechte reproduceerbaarheid van de test voor een MIC van 4 mg/l te erkennen (ATU in de EUCAST versie 2021). Vervolgens hebben de klinische gegevens en de PK/PD aangetoond dat $<50\%$ van de patiënten met een normale nierfunctie een adequate blootstelling aan colistine bekomen (meer bepaald bij een pneumonie) geassocieerd aan een verhoogd risico aan nefrotoxiciteit. Tenslotte tonen klinische studies systematisch een verhoogde mortaliteit aan voor de in monotherapie gebruikte polymyxines in vergelijking met andere agentia [13]. Om deze redenen beveelt de laatste versie van EUCAST 2022 aan om deze drempel van 4 mg/l te gebruiken voor *P. aeruginosa*, maar om een commentaar toe te voegen aan het rapport: « In systemische infecties moet colistine gebruikt worden in associatie met een ander actief agens » [2]. High level resistentie tegen colistine (MIC >4) bij *P. aeruginosa* blijft zeer zeldzaam en verschijnt slechts in geval van voorafgaande blootstelling aan colistine (de behandeling van MDR/XDR stammen, mucoviscidose...) en komt vooral door de modificatie van het lipopolysaccharide (LPS) ten gevolge van mutaties die gebonden zijn aan de regulatiesystemen PmrAB en PhoPQ. We herinneren er opnieuw aan dat de enige methode die aanbevolen is door EUCAST (en CLSI) voor de bepaling van gevoeligheid voor colistine de vloeibare microdilutie is en dat diffusietechnieken te mijden zijn [14].

Tot slot, cefiderocol is een nieuw antibioticum dat veelbelovend is voor de behandeling van Gram negatieve MDR/XDR waaronder *P. aeruginosa* MBL. Het betreft een siderofoor cefalosporine met een verhoogde stabiliteit tegen de verschillende β -lactamasen van alle klassen van Ambler, met inbegrip van de MBL. Multipiele in vitro studies hebben een uitstekend bewaarde activiteit van cefiderocol tegen verschillende moeilijk te behandelen Gram negatieve MDR/XDR aangetoond (*Enterobacterales*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* en *S. maltophilia*). De laatste klinische fase 3 studies tonen veelbelovende gegevens met een niet-inferioriteit (APEKS-NP) tegenover de beste beschikbare behandelingen (MTD), maar één studie (CREDIBLE-CR) toont een verhoogde globale mortaliteit met cefiderocol in vergelijking met MTD voor de behandeling van ernstige infecties met Gram-negatieven die resistent zijn tegen carbapenems [15]. De bepaling van de MIC van cefiderocol kan gebeuren door microdilutie in bouillon op voorwaarde van een MH milieu waaruit het ijzer verwijderd is. De diskdiffusie methode van cefiderocol op standaard MH agar schijnt een bruikbaar alternatief te bieden om resistentie tegen cefiderocol uit te sluiten [16].

Tijdens deze EKE-1, werd deze stam M18740 goed geïdentificeerd als *P. aeruginosa* met zijn MDR karakter door nagenoeg alle 124 laboratoria. Enkel aztreonam biedt een zekere variabiliteit voor het resultaat S (47%) /I (35%) /R (18%), waarschijnlijk enerzijds te verklaren door de MIC-waarde (8-16 mg/l) dicht bij de klinische drempel ($S \leq 16$ mg/l) en anderzijds door de verschillende gebruikte EUCAST richtlijnen (I vs S voor 2020). Het is geruststellend vast te stellen dat 81% van de laboratoria (proportie identiek in 2019 en 2022) het belang van Ziekenhuishygiëne vermeld hebben gezien zijn potentieel epidemisch vermogen, hoewel slechts 40% van de laboratoria de aanwezigheid van een carbapenemase vermeld hebben.

Te-Din Daniel Huang

CNR des Bacilles Gram-négatifs multirésistants, CHU UCL Namur

Referenties

1. Tacconelli, E., et al., *Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis*. *Lancet Infect Dis*, 2018. **18**(3): p. 318-327.
2. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clinical breakpoints version 12.0*. In *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*. 2022 1 March 2022, date last accessed]; Available from: <http://www.eucast.org>.

3. European Centre for Disease Prevention and Control, *Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) Annual Epidemiological Report 2019* Stockholm: ECDC, 2020.
4. Sciensano. *Surveillance of antimicrobial resistance in Belgian hospitals. Feedback: 2019*. 2020.
5. Woodford, N., J.F. Turton, and D.M. Livermore, *Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance*. *FEMS Microbiol Rev*, 2011. **35**(5): p. 736-55.
6. Anantharajah, A. *Molecular characterization of VIM-producing Pseudomonas aeruginosa isolates in Belgium*. in *In: Abstracts of the 32th Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse, Paris, 2019*. 2019. Abstract no P073.
7. Juan, C., C. Pena, and A. Oliver, *Host and Pathogen Biomarkers for Severe Pseudomonas aeruginosa Infections*. *J Infect Dis*, 2017. **215**(suppl_1): p. S44-S51.
8. Noel, A., et al., *Comparative Evaluation of Four Phenotypic Tests for Detection of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria*. *J Clin Microbiol*, 2017. **55**(2): p. 510-518.
9. Volland, H., et al., *Improvement of the Immunochromatographic NG-Test Carba 5 Assay for the Detection of IMP Variants Previously Undetected*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019. **64**(1).
10. Heinrichs, A., et al., *Evaluation of several phenotypic methods for the detection of carbapenemase-producing Pseudomonas aeruginosa*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2015. **34**(7): p. 1467-74.
11. Conseil Supérieur de la Santé. *RECOMMANDATIONS EN MATIÈRE DE PRÉVENTION, MAÎTRISE ET PRISE EN CHARGE DES PATIENTS PORTEURS DE BACTÉRIES MULTI-RÉSISTANTES AUX ANTIBIOTIQUES (MDRO) DANS LES INSTITUTIONS DE SOINS*. 2019 AVIS N° 9277]; Available from: www.css-hgr.be.
12. Wright, H., R.A. Bonomo, and D.L. Paterson, *New agents for the treatment of infections with Gram-negative bacteria: restoring the miracle or false dawn?* *Clin Microbiol Infect*, 2017. **23**(10): p. 704-712.
13. Satlin, M.J., et al., *Clinical and Laboratory Standards Institute and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Position Statements on Polymyxin B and Colistin Clinical Breakpoints*. *Clin Infect Dis*, 2020. **71**(9): p. e523-e529.
14. Matuschek, E., et al., *Antimicrobial susceptibility testing of colistin - evaluation of seven commercial MIC products against standard broth microdilution for Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, and Acinetobacter spp.* *Clin Microbiol Infect*, 2018. **24**(8): p. 865-870.
15. Parsels, K.A., et al., *Cefiderocol: a novel siderophore cephalosporin for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections*. *J Antimicrob Chemother*, 2021. **76**(6): p. 1379-1391.
16. Matuschek, E., et al., *Cefiderocol: EUCAST criteria for disc diffusion and broth microdilution for antimicrobial susceptibility testing*. *J Antimicrob Chemother*, 2022. **77**(6): p. 1662-1669.

III. Resultaten van de identificaties

125 Belgische en Luxemburgse klinische laboratoria (alle ingeschreven laboratoria) hebben een antwoord ingevuld. Daarnaast heeft ook één buitenlands laboratorium (Catalonië) deelgenomen aan deze EKE; de resultaten van dit laboratorium worden niet verwerkt in de analyse maar ze waren wel correct.

Hoewel in de Toolkit de mogelijkheid voorzien is om “uitbested” te antwoorden, zouden wij willen vragen dit in hoofdzaak te gebruiken indien u “vastloopt” in de identificaties. **Indien u in routine een bepaalde staalorsprong niet verwerkt (bvb. hemoculturen) raden wij u toch aan om dergelijke stalen te enten en identificeren** (en het eventuele antibiogram uit te voeren): **in vele gevallen betreft het hier immers kiemen die ook in andere afnames kunnen voorkomen.**

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

De correcte of aanvaardbare resultaten zijn onderlijnd.

3.1. Cultuur M/18472 *Candida albicans* (hemocultuur)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: “In de nasleep van een urosepsis met *K. pneumoniae* behandeld met cefuroxime en nadien ciprofloxacine, vertoont een 83-jarige patiënt 1 paar positieve hemoculturen.

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 de antimicrobiële gevoeligheidstesten uitvoeren indien u dit ook in routine zou uitvoeren. ”

<u><i>Candida albicans</i></u>	124 99.2%
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	20
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram ¹	50
Epidemiologische redenen	3
Andere niet gepreciseerde reden	1
Uitbested	1
Wordt niet doorgestuurd	50
Totaal	125

¹ Vier laboratoria vermelden expliciet dat het de bepaling van het antibiogram betreft.

Op de vraag naar het belang van de kiem, antwoordden 8 laboratoria dat de kiem zowel een epidemiologisch belang als een belang vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt heeft. 34 laboratoria antwoordden dat de kiem een epidemiologisch belang heeft en 4 laboratoria dat de kiem een belang heeft vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt.

3.2. Cultuur M/18523 *Streptococcus canis* (hemocultuur)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: “Een 91-jarige diabetische patiënte met chronische vasculaire ulcera wordt in het ziekenhuis opgenomen met hoge koorts. De laboratorium onderzoeken tonen een leukocytose met 85% neutrofielen en hoge waarden voor CRP en procalcitonin. Er worden hemoculturen afgenomen en na 24 uur zijn 2/6 flessen positief zijn.

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

Dit is een didactisch staal.

<i>Streptococcus canis</i>	97	77.6%
<i>Streptococcus canis/dysgalactiae</i> ¹	6	4.8%
<i>Streptococcus canis/dysgalactiae equisimilis</i> ¹	1	0.8%
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	6	4.8%
<i>Streptococcus dysgalactiae equisimilis</i>	6	4.8%
<i>Streptococcus</i> groep G	8	6.4%
Uitbested	1	

¹ Een aantal laboratoria hebben vermeld dat de Maldi-Tof niet toelaat het onderscheid te maken tussen *S. canis* en *S. dysgalactiae*

Eén laboratorium dat *S. canis* antwoordde en één laboratorium dat *S. dysgalactiae* antwoordde, vermelden in de vrij tekst eveneens dat de kiem met Lancefield groep G agglutineerde.

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	4
Epidemiologische redenen	11
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram	10
Andere niet-gepreciseerde reden	1
Uitbested	1
Wordt niet doorgestuurd	98
Totaal	125

Op de vraag naar het belang van de kiem, antwoordden 2 laboratoria dat de kiem zowel een epidemiologisch belang als een belang vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt heeft. 16 laboratoria antwoordden dat de kiem een epidemiologisch belang heeft.

3.3. Cultuur M/18588 *Burkholderia cepacia* (sputum)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Sputum van een 39 jaar oude patiënt met mucoviscidose

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

<i>Burkholderia cepacia</i> complex	45	36.0%
<i>Burkholderia cepacia</i>	21	16.8%
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	54	43.2%
<i>Burkholderia mallei</i>	1	
<i>Burkholderia</i> species	2	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	

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 + opvolging mucoviscidosepatiënten	1
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram + andere niet-gepreciseerde reden	1
Epidemiologische redenen + confirmatie van identificatie en/of antibiogram ¹	17
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram + opvolging mucoviscidosepatiënten	1
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram	24
Epidemiologische redenen	7
opvolging mucoviscidosepatiënten	2
Wordt niet doorgestuurd	72
Totaal	125

¹ Eén laboratorium vermeldt expliciet dat het de bepaling van het antibiogram betreft.

Op de vraag naar het belang van de kiem, antwoordden 16 laboratoria dat de kiem zowel een epidemiologisch belang als een belang vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt heeft. 27 laboratoria antwoordden dat de kiem een epidemiologisch belang heeft en 7 laboratoria dat de kiem een belang heeft vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt.

3.4. Cultuur M/18740 *Pseudomonas aeruginosa* (hemocultuur)

Het staal was voorzien van volgende klinische inlichtingen: "Een 80-jarige patiënt, is sinds anderhalve week opgenomen op de afdeling hematologie en vertoont nu hoge koorts, verwardheid en algemeen onwelzijn. 3 sets hemoculturen zijn positief.

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

Pseudomonas aeruginosa
Uitbested

124 99.2%
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	24
Confirmatie van identificatie en/of antibiogram ²	44
Epidemiologische redenen	8
Uitbested	1
Wordt niet doorgestuurd	48
Totaal	125

¹ Vier laboratoria vermelden expliciet dat het de bepaling van het antibiogram betreft en meer bepaald opsporing van het carbapenemase.

² Drie laboratoria vermelden expliciet dat het de bepaling van het antibiogram betreft; één hiervan vermeldt bepaald opsporing van het carbapenemase.

Op de vraag naar het belang van de kiem, antwoordden 72 laboratoria dat de kiem zowel een epidemiologisch belang als een belang vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt heeft. 6 laboratoria antwoordden dat de kiem een epidemiologisch belang heeft en 29 laboratoria dat de kiem een belang heeft vanuit ziekenhuishygiënisch standpunt.

3.5. Uitstrijkje voor Gramkleuring M/18332 (hemocultuur)

Het betrof gisten (*Candida albicans*).

123 laboratoria hebben een antwoord gegeven: ze hebben allen de gisten teruggevonden. Eén laboratorium vermeldde tevens de aanwezigheid van Gram positieve kokken en één laboratorium de aanwezigheid van Gram positieve kokken en Gram positieve staven.

IV. Antibioqram

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 experten.

Op staal M/18472 voerden 46 laboratoria geen antifungigram uit. De meeste van deze laboratoria vermelden in de vrije tekst expliciet dat zij in routine geen antifungigram uitvoeren maar dat dit doorgestuurd wordt.

Op staal M/18740 voerden 3 laboratoria geen antibiogram uit: twee laboratoria die het staal of het antibiogram uitbesteden en 1 laboratorium dat verklaarde geen antibiogram uit te voeren op dit type kiem (dit betreft een referentielaboratorium dat focust op andere kiemen).

4.1. Cultuur M/18472 (*Candida albicans*)

Tabel 4.1.1. Resultaten der laboratoria voor de anfungigrammen voor staal M/18472 (*Candida albicans*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*	Niet in routine
Fluconazole	R	78	-	2	75	1	1
Voriconazole	R	67	3	3	60	1	4
Itraconazole	R	28	1	-	25	2	5
Posaconazole	**	26	2	-	21	3	8
Amfotericine B	**	61	58	1	-	2	5
Caspofungine	S	63	57	1	4	1	4
Anidulafungine	S	43	35	1	6	1	2
Micafungine ¹		7	7	-	-	-	1

*Een aantal laboratoria verklaarden geen interpretatie kunnen geven voor bepaalde antifungicide middelen aangezien er hier geen richtlijnen voor bestaan.

** Deze verwachte resultaten worden nader besproken in het commentaar op de enquête.

¹ Vier laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor caspofungine, anidulafungine en micafungine. Drie laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor caspofungine en micafungine.

Het in de tabellen 4.1.2. tot en met 4.1.4. weergegeven resultaat is het finale resultaat per techniek, na eventuele wijziging via toepassing der expert-regels.

Eén laboratorium gebruikte de papieren schijfjes voor de bepaling van de gevoeligheid voor fluconazole ("R"), itraconazole ("R") en amfotericine B ("S").

Twee laboratoria gebruikten de Neosensitabs schijfjes voor de bepaling van de gevoeligheid. Het ene voor fluconazole ("R"), voriconazole ("R"), itraconazole ("R") en amfotericine B ("S"). Het andere voor fluconazole ("R"), itraconazole ("R") en amfotericine B ("S").

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 4.1.2. Resultaten bekomen MIC-waarden met de gradiënt MIC methoden voor staal M/18472 (*Candida albicans*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Fluconazole	9	9 x R	9 x ≥ 256 mg/L
Voriconazole	1	1 x R	>32 mg/L
Amfotericine B	1	1 x S	0.125 mg/L
Anidulafungine	5	5 x S	0.002 mg/L; 0.004 mg/L; 0.006 mg/L; 0.012 mg/L; 0.032 mg/L

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

Tabel 4.1.3. Resultaten bekomen MIC-waarden met de microdilutie voor M/18472 (*Candida albicans*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Fluconazole	36	35 x R 1 x geen interpretatie	64 mg/L; 11 x 128 mg/L; 23 x \geq 256 mg/L 256 mg/L
Voriconazole	36	35 x R 1 x geen interpretatie	4 mg/L; 34 x \geq 8 mg/L 8 mg/L
Itraconazole	25	22 x R 1 x S 2 x geen interpretatie	0.5 mg/L; 9 x 1 mg/L; 2 mg/L; 11 x \geq 16 mg/L 1 mg/L 1 mg/L; >8 mg/L
Posaconazole	26	21 x R 2 x S 3 x geen interpretatie	12 x 0.5 mg/L; 3 x 1 mg/L; 6 x \geq 8 mg/L 0.5 mg/L; 1 mg/L 0.5 mg/L; 2 x 1 mg/L
Amfotericine B	30	1 x I 27 x S 2 x geen interpretatie	1 mg/L \leq 0.12 mg/L; 16 x 0.5 mg/L; 9 x 1 mg/L; 2 mg/L 2 x 0.5 mg/L
Caspofungine	34	4 x R 1 x I 28 x S 1 x geen interpretatie	2 x 0.12 mg/L; 0.125 mg/L; \geq 8 mg/L 0.5 mg/L 0.03 mg/L; 8 x 0.06 mg/L; 15 x 0.12 mg/L; 0.125 mg/L; 3 x 0.25 mg/L 0.12 mg/L
Anidulafungine	38	6 x R 1 x I 30 x S 1 x geen interpretatie	3 x 0.12 mg/L; 0.125 mg/L; 0.25 mg/L; \geq 8 mg/L 0.5 mg/L 2 x 0.015 mg/L; 9 x 0.03 mg/L; 10 x 0.06 mg/L; 9 x 0.12 mg/L 0.06 mg/L
Micafungine	4	4 x S	\leq 0.15 mg/L; 2 x 0.03 mg/L; 0.06 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 4.1.4. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/18472 (*Candida albicans*).

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			
Fluconazole	-	2	28	16	15 (30)	8 - >64
Voriconazole	3	3	23	≥8	12 (29)	≤0.12- ≥8 ¹
Amfotericine B	27	-	-	≤0.25, 0.5 en 1	3 x 9 (27)	≤0.25 – 1
Caspofungine	28	-	-	≤0.12	22 (28)	≤0.12 – 0.25
Micafungine	3	-	-	≤0.06	3 (3)	-

¹ Twee laboratoria met de interpretatie "S" vermeldden een MIC-waarde ≤0.12 mg/L; het derde laboratorium met de interpretatie "S" vermeldde een MIC-waarde van 1 mg/L.

Er rest ons om te vermelden dat 1 laboratorium caspofungine als "S" antwoordt op basis van het resultaat voor anidulanfungine.

Eén laboratorium wijzigde het ruw resultaat "I" naar een finaal resultaat "S" voor amfotericine B voor de microdilutietechniek.

4.2. Cultuur M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*)

Sommige deelnemers bepaalden de gevoeligheid met meer dan 1 methode. Deze resultaten kwamen in de meeste gevallen overeen. Waar dit niet het geval was namen wij in onderstaande tabel 4.2.1. het resultaat over dat het laboratorium aangaf te rapporteren aan de clinicus; als het laboratorium dit niet aangaf, hebben wij het meest resistente resultaat vermeld.

De stam was drager van een VIM carbapenemase. 31 laboratoria hebben dit ook expliciet vermeld; 19 andere laboratoria hebben de aanwezigheid van een carbapenemase vermeld (waarvoor zij de stam zouden doorsturen); één laboratorium vermeldde de stam door te sturen voor bepaling van de resistentiemechanismen zonder deze te expliciteren. 12 laboratoria zouden de stam doorsturen voor bepalen of bevestigen van het resultaat voor colistine.

Tabel 4.2.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	Niet in routine
Piperacilline-tazobactam	R	122	1	4	117	3
Ceftazidime	R	121	1	-	120	2
Ceftazidime-avibactam ¹	R	11	1	-	10	3
Cefepime	R	114	-	-	114	18
Meropenem	R	121	-	-	121	6
Imipenem ²	R	4	-	-	4	1
Aztreonam	I	82	38	29	15	15
Ciprofloxacin	R	120	-	-	120	2
Levofloxacin ³	R	8	-	-	8	-
Gentamicine	*	88	5	3	80	21
Amikacine	R	116	1	-	115	6
Tobramycine ⁴	R	3	-	-	3	-
Colistine	S	85	83	-	2	31

* Dit verwachte resultaat wordt nader besproken in het commentaar op de enquête.

¹ Elf laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor ceftazidime en ceftazidime-avibactam.

² Vier laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor imipenem en meropenem.

³ Zeven laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor ciprofloxacin en levofloxacin. Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor levofloxacin i.p.v. ciprofloxacin.

⁴ Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor gentamicine, amikacine en tobramycine. Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor amikacine en tobramycine.

Het in de tabellen 4.2.2. tot en met 4.2.8. weergegeven resultaat is het finale resultaat per techniek, 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.

Tabel 4.2.2. Resultaten bekomen met de papieren schijfjes voor staal M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibioticum	Aantal gebruikers met vermelding van lading (Totaal aantal gebruikers)	Lading (µg/schijfje)	Mediane diameter	Grenswaarden diameter	Resultaat (Totaal aantal gebruikers)		
					S	I	R
Piperacilline-tazobactam	(46) ¹				-	3	43
	40 ²	30+6	10	5 – 13	-	-	41
	5	100+10	16	13 – 17	-	3	2
Ceftazidime	(46) ³	-	-	-	-	-	46
	40 ⁴	10	7	5 – 15	-	-	41
	5	30	13	12 – 13	-	-	5
Cefepime	38 (38)	30	14	10 – 18	-	-	38
Meropenem	43 (45) ⁵	10	6	5 – 8	-	-	45
Imipenem	3 (3)	10	6	6 – 7	-	-	3
Aztreonam	41 (41)	30	22	12 – 30	25	14	2
Ciprofloxacin	42 (43) ⁶	5	6	5 – 6	-	-	43
Levofloxacin	2 (2)	5	6.5	6 – 7	-	-	2
Gentamicine	28 (28)	10	12	9 – 16	2	4	22
Amikacine	40 (40)	30	6	6 – 12	-	-	40
Tobramycine	1 (1)	10	7	-	-	-	1
Colistine	5 (6) ⁷	5	15	15 – 17	6	-	-

¹ Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt: de lading 30+6 µg werd vermeld door de gebruikers van de EUCAST-richtlijnen, de lading 100 + 10 µg door de gebruikers van de CLSI-richtlijnen.

² Tevens vermeldde 1 laboratorium een diameter ≤6 mm

³ Er werden 2 verschillende ladingen gebruikt: de lading 10 µg werd vermeld door de gebruikers van de EUCAST-richtlijnen, de lading 30 µg door de gebruikers van de CLSI-richtlijnen.

⁴ Tevens vermeldde 1 laboratorium een diameter ≤6 mm

⁵ Tevens vermeldde 1 laboratorium een lading van 6 µg en 1 laboratorium een diameter ≤6 mm

⁶ Tevens vermeldde 1 laboratorium een diameter ≤6 mm

⁷ Tevens vermeldde 1 laboratorium een lading van 50 µg

De resultaten bekomen door de laboratoria die de Neosensitabs schijfjes gebruiken, vindt u in onderstaande tabel. Gezien het beperkte aantal (<6) werden er geen statistische berekeningen op uitgevoerd.

Tabel 4.2.3. Resultaten bekomen met de Neosensitabs voor staal M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibioticum	N labo's	S	I	R
Piperacilline-tazobactam	4	-	-	4
Ceftazidime	5	-	-	5
Cefepime	3	-	-	3
Meropenem	5	-	-	5
Aztreonam	5	3	1	1
Ciprofloxacine	3	-	-	3
Levofloxacine	1	-	-	1
Gentamicine	1	-	-	1
Amikacine	5	-	-	5

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 4.2.4. Resultaten bekomen MIC-waarden met de gradiënt MIC methoden voor staal M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Piperacilline-tazobactam	3	3 x R	128 mg/L; 2 x ≥256 mg/L
Ceftazidime	1	1 x R	48 mg/L
Ceftazidime-avibactam	7	6 x R 1 x S	1 x 16 mg/L, 24 mg/L; 2 x 32 mg/L; 64 mg/L 8 mg/L
Cefepime	2	2 x R	32 mg/L; 48 mg/L
Meropenem	8	8 x R	7 x ≥32mg/L; ≥256 mg/L
Aztreonam	2	2 x I	6 mg/L; 16 mg/L
Ciprofloxacine	1	1 x R	32 mg/L
Levofloxacine	1	1 x R	12 mg/L
Amikacine	1	1 x R	256 mg/L
Colistine	9	1 x R 8 x S	3 mg/L 0.19 mg/L; 0.38 mg/L; ≤0.25 mg/L; <0.5 mg/L; 1 mg/L; 3 x 2 mg/L

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

Tabel 4.2.5. Resultaten bekomen MIC-waarden met de microdilutie voor staal M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibioticum	Aantal laboratoria	Resultaat	MIC-waarde (mg/L)
Piperacilline-tazobactam	13	12 x R 1 x S	>16 mg/L; 8 x ≥32 mg/L; 3 x 64 mg/L 16 mg/L
Ceftazidime	13	12 x R 1 x S	10 x ≥16 mg/L; 2 x 32 mg/L 4 mg/L
Ceftazidime-avibactam	3	3 x R	2 x ≥16 mg/L; 32 mg/L
Cefepime	6	6 x R	>8 mg/L; 3 x 16 mg/L; 2 x ≥32 mg/L
Meropenem	16	16 x R	10 x ≥16 mg/L; 5 x ≥32 mg/L; 64 mg/L
Imipenem	1	11 X R	32 mg/L
Aztreonam	14	2 x R 5 x I 7 x S	>4 mg/L; ≥32 mg/L 2 x 8 mg/L; 12 mg/L; 2 x 16 mg/L 4 mg/L; 3 x 8 mg/L; 3 x 16 mg/L
Ciprofloxacin	13	13 x R	>1 mg/L; 8 x ≥2 mg/L; 3 x ≥ 8 mg/L, ; 16 mg/L
Gentamicine	7	6 x R 1 x S	>4 mg/L; 4 x 8 mg/L; ≥32 mg/L 4 mg/L
Amikacine	12	12 x R	>16 mg/L; 10 x ≥32 mg/L; 64 mg/L
Tobramycine	1	1 x R	>8 mg/L
Colistine	26	26 x S	9 x ≤1 mg/L; 16 x ≥2 mg/L; 3 mg/L

Eén laboratorium gebruikte de agardilutie voor bepaling van de gevoeligheid voor ceftazidime, cefepime, aztreonam, ciprofloxacin, gentamicine en amikacine en bekwam voor al deze antibiotica het resultaat "R".

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

Tabel 4.2.6. Resultaten bekomen met de Vitek voor staal M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*).

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			
Piperacilline-tazobactam	-	-	56	≥128	48 (56)	≥64 - ≥128
Ceftazidime	-	-	56	16	51 (56)	16 - ≥64
Cefepime	-	-	56	≥16	29 (56)	≥16 - ≥32
Meropenem	-	-	55	≥16	51 (55)	>8 - ≥16
Aztreonam	6	3	10	16	19 (19) ¹	-
Ciprofloxacin	-	-	56	≥4	52 (56)	>2 - ≥4
Levofloxacin	-	-	4	≥8	4 (4)	-
Gentamicine	-	-	52	8	52 (52)	-
Amikacine	1	-	55	≥64	52 (56)	>32 - ≥64 ²
Tobramycine	-	-	1	≥16	1 (1)	-
Colistine	38	-	-	≤0.5	22 (38)	≤0.5 - 4

¹ Ongeacht de interpretatie vermelden alle laboratoria een MIC-waarde van 16 mg/L.

² Het laboratorium dat de interpretatie "S" gaf, vermeldde een MIC-waarde ≥64 mg/L.

De resultaten bekomen met Phoenix worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 4.2.7. Resultaten bekomen met de Phoenix voor staal M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*).

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			
Piperacilline-tazobactam	-	-	17	≥32	9 (17)	≥16 - >64
Ceftazidime	-	-	18	>8	16 (18)	>8 - >16
Ceftazidime-avibactam	-	-	1	32	1 (1)	-
Cefepime	-	-	18	≥16	10 (18)	8 - ≥16
Meropenem	-	-	17	>8	16 (17)	>8 - >32
Imipenem	-	-	1	>8	1 (1)	-
Aztreonam	5	5	-	8	10 (10) ¹	-
Ciprofloxacin	-	-	18	>1	18 (18)	-
Levofloxacin	-	-	1	>2	1 (1)	-
Gentamicine	3	-	5	≥4	8 (8) ²	-
Amikacine	-	-	18	≥16	18 (18) ³	-
Colistine	3	-	1	≤1	4 (4) ³	-

¹ Ongeacht de interpretatie vermelden alle laboratoria een MIC-waarde van 8 mg/L.

² Vier laboratoria antwoorden een MIC van 4 mg/L (de drie met interpretatie "S" en 1 met de interpretatie "R") en 4 laboratoria vermelden een MIC-waarde >4 mg/L (alle vier met de interpretatie "R").

³ Alle vier laboratoria antwoorden een MIC ≤1 mg/L en de ruwe interpretatie "S" maar 1 van de vier wijzigd deze interpretatie naar "R" voor het finale resultaat.

Vier laboratoria hebben Microscan gebruikt voor de bepaling van de gevoeligheid. De resultaten worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 4.2.8. Resultaten bekomen met de Microscan voor M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibioticum	N labo's	S	I	R
Piperacilline-tazobactam	4	-	1	3
Ceftazidime	4	-	-	4
Cefepime	4	-	-	4
Meropenem	4	-	-	4
Aztreonam	2	-	2	-
Ciprofloxacin	4	-	-	4
Gentamicine	1	-	-	1
Amikacine	4	-	-	4
Colistine	3	3	-	-

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

- Piperacilline-tazobactam
 - o I→R
 - Papieren schijfjes: 1 labo (mede op basis van andere technieken)
 - o I→S
 - Microdilutie: 1 labo
- Ceftazidime
 - o I→S
 - Microdilutie: 1 labo
- Aztreonam
 - o I→R
 - Papieren schijfjes: 1 labo
 - Vitek 2 (compact): 4 labo's
 - o S→R
 - Vitek 2 (compact): 2 labo's
- Colistine
 - o S→R
 - Phoenix: 1 labo

5.1. De monsters

Ter gelegenheid van deze enquête werden 2 stoelgangsstalen verzonden.
115 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/18272

Een man wordt opgenomen met een ernstige dysenterie.

P/18846

Een 3-jarig Argentijns adoptiekindje landt op Zaventem en blijkt bij zijn aankomst last te hebben van vage abdominale klachten

Staal P/ 18272 bevatte cysten van *Entamoeba histolytica/dispar*.

Staal P/18846 bevatte eieren van *Hymenolepis nana*.

Staal P/18846 werd reeds verstuurd in de EKEs 2017/3 (onder nummer P/15347) en 2014/3 (onder nummer P/10183).

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

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.

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).

5.2. Resultaten voor staal P/18272

De 115 laboratoria hebben 125 antwoorden ingeleverd: 106 laboratoria antwoordden één parasiet, 8 laboratoria 2 parasieten en 1 laboratorium antwoordde 3 parasieten. De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.2.1. Resultaten voor staal P/18272

Resultaat	Aantal
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	84
<i>Entamoeba histolytica</i>	14
<i>Entamoeba dispar</i>	2
<i>Entamoeba coli</i>	15
<i>Entamoeba hartmanni</i>	2
<i>Entamoeba species</i>	2
<i>Endolimax nana</i>	1
<i>Iodamoeba butschlii</i>	2
<i>Cryptosporidium species</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i>	2
Totaal	125

De beide laboratoria die *H. nana* geantwoord hebben, hebben vermoedelijk beide stalen omgewisseld; één van beiden antwoordde voor staal P/18846 immers *E. histolytica/dispar* en het andere *Entamoeba species*.

Enkele laboratoria vermeldden dat zij een bijkomende antigen test uitvoerden. Wij willen echter benadrukken dat de stalen die in de EKE verzonden worden, geformoliseerd zijn en dat dit een adequate interpretatie van de antigeentesten kan belemmeren (het is aangewezen de instructies van de bijsluiter hieromtrent grondig na te lezen).

Onderstaande tabel geeft de combinaties aan die door de laboratoria geantwoord werden.

Tabel 5.2.2. Combinaties van parasieten geantwoord voor staal P/18272

N parasieten	ID parasieten	N labo's
1 parasiet		106
	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	77
	<i>Entamoeba histolytica</i>	13
	<i>Entamoeba dispar</i>	1
	<i>Entamoeba coli</i>	8
	<i>Entamoeba hartmanni</i>	2
	<i>Entamoeba species</i>	2
	<i>Cryptosporidium species</i>	1
	<i>Hymenolepis nana</i>	2
2 parasieten		8
	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> + <i>Entamoeba coli</i>	4
	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> + <i>Endolimax nana</i>	1
	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> + <i>Iodamoeba butschlii</i>	1
	<i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Entamoeba coli</i>	1
	<i>Entamoeba dispar</i> + <i>Entamoeba coli</i>	1
3 parasieten		1
	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Iodamoeba butschlii</i>	1
Totaal		115

De door de laboratoria geantwoorde evolutiestadia voor *Entamoeba histolytica/dispar* worden in onderstaande tabel weergegeven.

Tabel 5.2.3. Evolutiestadia voor *Entamoeba histolytica/dispar* voor staal P/18272

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Cyste	82
Oöcyste	1
Ei	1
Totaal	84

De 14 laboratoria die *E. histolytica* antwoordden, hebben alle het evolutiestadium "cyste" vermeld. Van de laboratoria die *E. dispar* antwoordden, vermeldde één van beide "cyste", het andere "ei".

56 laboratoria zouden dit staal in routine doorsturen naar een referentiecentrum; zij gaven volgende identificaties:

- 45 *E. histolytica/dispar*
- 2 *E. histolytica/dispar* + *E. coli*
- 1 *E. histolytica/dispar* + *E. nana*
- 1 *E. histolytica/dispar* + *I. butschlii*
- 2 *E. histolytica*
- 1 *E. dispar* + *E. nana*
- 3 *E. coli*
- 1 *Entamoeba species*

5.3. Resultaten voor staal P/18846

De 115 laboratoria hebben 116 antwoorden ingeleverd: 114 laboratoria antwoordden één parasiet en 1 laboratorium antwoordde 2 parasieten.

De resultaten worden in onderstaande tabel weergegeven:

Tabel 5.3.1. Resultaten voor staal P/18846

Resultaat	Aantal
<i>Hymenolepis nana</i>	109
<i>Hymenolepis diminuta</i>	2
<i>Taenia</i> species	1
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	1
<i>Entamoeba</i> species	1
<i>Endolimax nana</i>	1
<i>Chilomastix mesnili</i>	1
Totaal	116

De laboratoria die *E. histolytica/dispar* en *Entamoeba* species geantwoord hebben, hebben vermoedelijk beide stalen omgewisseld (cfr. supra).

Het laboratorium dat de combinatie van twee parasieten antwoordde, vermeldde "*H. nana* + *C. mesnili*".

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

Tabel 5.3.2. Evolutiestadia voor *Hymenolepis nana* voor staal P/18846

Evolutiestadium	Aantal laboratoria
Ei	98
Bevrucht ei	4
Embryofoor	1
Cyste	4
Oöcyste	2
Totaal	109

Onderstaande tabel geeft een vergelijking tussen de resultaten die voor dit staal bekomen werden in de 3 enquêtes waarin het verzonden werd.

Tabel 5.3.3. Vergelijking van de resultaten voor staal P/10183 (2014/3), P/15347 (2017/3) en P/18846 (2022/1).

P/10183 (2014/3): *H. nana*
96.1%

P/15347 (2017/3): *H. nana*
97.8%

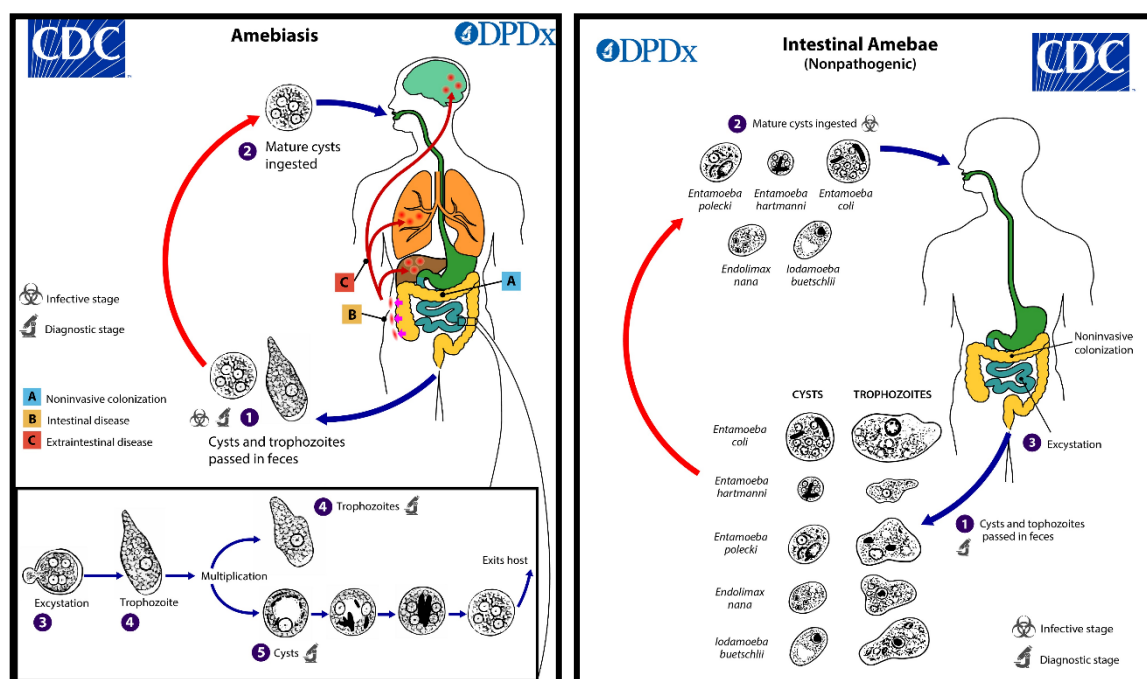
P/18846 (2022/1) *H. nana*
94.0%

Negen laboratoria zouden dit staal in routine doorsturen naar een referentiecentrum: 8 antwoordden *H. nana* en 1 *H. diminuta*.

5.4. Commentaar op de enquête

Van de 115 laboratoria die dit staal beantwoordden, gaven 84 laboratoria aan *Entamoeba histolytica*/*E. dispar* gevonden te hebben. 14 laboratoria rapporteerden specifiek *E. histolytica* en 2 laboratoria *E. dispar*. Vervolgens identificeerden nog 8 laboratoria de parasiet in dit staal als *E. coli* en 2 als *E. hartmanni*. Ook hielden 2 laboratoria het op genus-niveau *Entamoeba* sp. en 7 labo's vermeldden een menginfectie van *E. histolytica*/*dispar* met *E. coli*

Zowel de pathogene soort *Entamoeba histolytica* als de niet-pathogene soort *Entamoeba dispar* hebben een wereldwijde verspreiding en hebben zowel de mens alsook niet-humane primaten als gastheer. *E. histolytica* infectie kan asymptomatisch blijven, alsook intestinale en hepatische amoebiase veroorzaken. Klinische (invasieve) amoebiase komt echter vooral voor in Centraal- en Zuid-Amerika, Afrika en Zuidoost-Azië. Hierbij valt de parasiet in eerste instantie de darmwand aan waarbij zich ulcera ontwikkelen, wat resulteert in de typische “amoebendysenterie” met bloederige en slijmerige diarree. Vervolgens kan de parasiet via bloed en lymfe getransporteerd worden naar andere organen, waarbij er een predilectie voor de lever bestaat, om daar vervolgens abscessen te veroorzaken. Naast deze meest gekende presentatie, bestaat ook een chronische amoebiasis met afwisselende periodes van rust en diarree, alsook een amoeboom (granulomateuze massa in het colon).

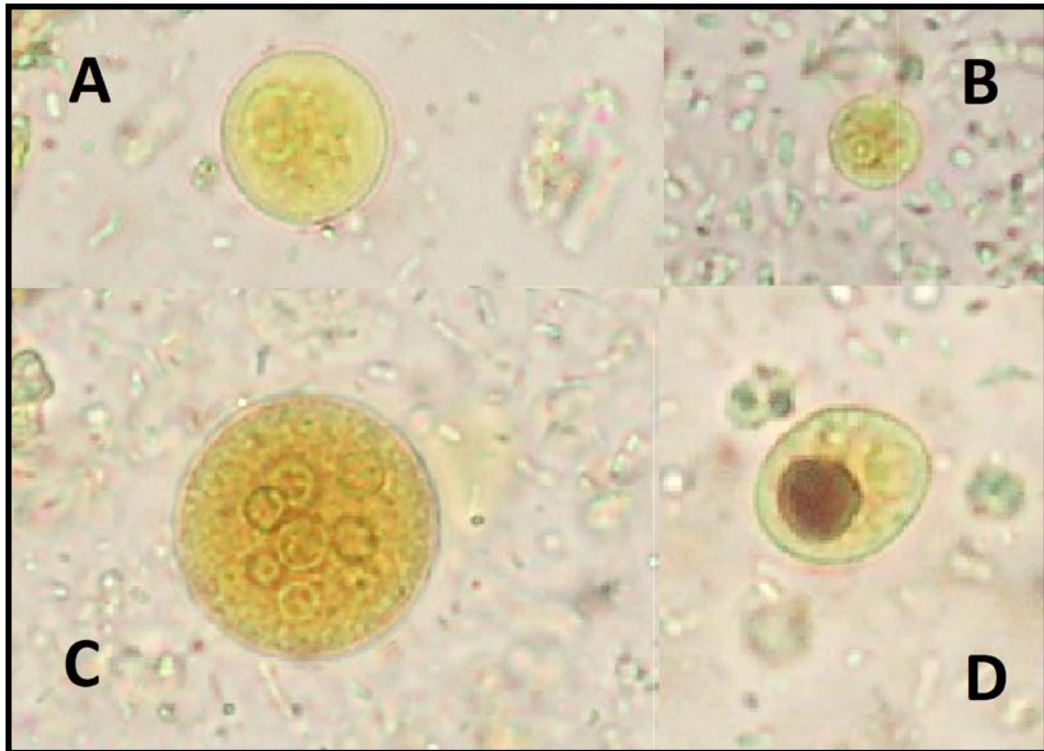


E. dispar heeft niet de mogelijkheid om invasief te evolueren. Om deze reden is het van cruciaal belang om *E. dispar* van *E. histolytica* te onderscheiden. *E. dispar* en *E. histolytica* komen voor in verschillende stadia: vegetatieve vormen (of trofozoieten) en cysten (transmissiestadium). Beide species kunnen niet van elkaar onderscheiden worden aan de hand van klassieke lichtmicroscopie. Echter wanneer erythrofage trofozoieten gevonden worden, duidt dit eerder op *E. histolytica*, hoewel *E. dispar* ook uitzonderlijk ingestie van erythrocyten vertoont. Monster P/18272 bevatte echter quasi uitsluitend cysten, die met andere woorden als “*E. histolytica*/*E. dispar*” geïdentificeerd dienden te worden. Zoals de meeste protozoa, kunnen amoeben in het vegetatieve stadium enkel opgepikt worden in geval verse stoelgang onderzocht wordt. Bij verdenking van een amoeben dysenterie is het dus aangewezen de vloeibare stoelgang zo snel mogelijk (binnen 30 minuten na productie van het monster) microscopisch te bekijken of dit snel te fixeren waarna een permanente kleuring mogelijk is.

Het onderscheid tussen enerzijds het *E. Histolytica*/*E. dispar*-complex, en anderzijds de overige, niet-pathogene intestinale amoebensoorten kan op basis van verschillende morfologische kenmerken van de cysten gebeuren (Figuur 1). Hierbij kan gebruik gemaakt worden van:

1. De grootte van de cyste (*E. hartmanni*)

2. Het aantal en de vorm van de aanwezige kernen (*E. coli*)
3. Bijkomende specifieke kenmerken, zoals bv. de glycogeenmassa (*Iodamoeba butschlii*)



Figuur 1 (Foto's Idzi Potters, Instituut voor Tropische Geneeskunde, Antwerpen)

A: *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* – Eén relatief grote kern met perifeer chromatine en klein, centraal gelegen, karyosoom. Gemiddelde afmeting: 10-20 µm.

B: *Entamoeba hartmanni* - Eén relatief kleine kern met perifeer chromatine en klein, centraal gelegen, karyosoom. Gemiddelde afmeting: 5-12 µm.

C: *Entamoeba coli* - Meerdere relatief kleine kernen met perifeer chromatine en klein, centraal gelegen, karyosoom. *E. coli* is de enige intestinale amoëbe die meer dan 4 van dergelijke kernen kan hebben. Gemiddelde afmeting: 10-35 µm.

D: *Iodamoeba butschlii* – Variabele vorm en één compacte kern zonder perifeer chromatine. Glycogeenmassa die sterk aankleurt onder invloed van lugol. Gemiddelde afmeting: 5-20 µm.

Wanneer er enkel cysten teruggevonden worden, kan verdere differentiatie (nodig om pathogeen vermogen te beoordelen) enkel betrouwbaar gebeuren aan de hand van moleculaire analyse. Voor moleculaire differentiatie wordt idealiter verse, niet-gefixeerde stoelgang gebruikt. PCR kan ook uitgevoerd worden op punctiemateriaal van een leverabces.

In geval van een amoëbenabces is microscopisch onderzoek minder zinvol en is, naast PCR, serologisch onderzoek voor de detectie van antistoffen gericht tegen *E. histolytica* aangewezen. Hoewel vooral gevoelig in geval van extra-intestinale invasieve amoëbiase, kan er ook kruisreactie optreden met antistoffen gericht tegen *E. dispar*, of kan de test reactie vertonen bij niet invasieve (enkel cysten) *E. histolytica* infecties.

Verder kan opsporen van *Entamoeba histolytica*-specifiek antigeen zinvol zijn, maar dan vooral voor screeningsdoeleinden complementair aan microscopie. De gevoeligheid en vooral de specificiteit van Ag-detectie kan sterk afhankelijk zijn van de gebruikte test-kit. Over het algemeen bestaat er veel kruisreactie met *E. dispar* en bijgevolg zijn Ag-detectie kits onvoldoende betrouwbaar om *E. dispar* en *E. histolytica* te differentiëren.

Tot slot dient nog vermeld te worden dat bepaalde amoëbensoorten (vrijlevende soorten, soorten die vooral bij niet-humane primaten voorkomen, etc) en die sporadisch de mens kunnen infesteren, niet steeds kunnen onderscheiden worden van het *E. Histolytica/E.dispar*-complex met lichtmicroscopie. Het betreft dan bv. *E. moshkovskii*, *E. polecki*, *E. nutalli*,... De

moleculaire differentiatie, die volgt na het microscopisch identificeren van een *E. Histolytica/E. dispar* infectie, is niet steeds in staat deze zeldzamere soorten op te pikken en te identificeren en kan dus negatief blijven.

Bevestigde gevallen van invasieve amoebiase worden bij voorkeur behandeld met een nitroimidazole, gevolgd door een (luminale) behandeling met paromomycine. Bij een niet-invasieve amoebiase volstaat een behandeling met enkel paromomycine in eerste lijn.

Idzi Potters, Henk Vereecken, Charlotte Drieghe, Dorien Van den Bossche
Instituut voor Tropische Geneeskunde
Antwerpen

Referenties:

Polderman A.M. Medische Parasitologie: handleiding bij de laboratoriumdiagnostiek, 2005.

Van den Bossche D, Cnops L, Verschueren J, Van Esbroeck M. Comparison of four rapid diagnostic tests, ELISA, microscopy and PCR for the detection of *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* spp. and *Entamoeba histolytica* in feces. *Journal of Microbiological Methods*; 2015: 110; 78-84 ; <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.01.016>

<https://www.cdc.gov/dpdx/amebiasis/index.html>

<https://www.cdc.gov/dpdx/diagnosticprocedures/stool/specimenproc.html>

6.1. Borrelia

6.1.1. INFORMATIE BETREFFENDE DE VERSTUURDE STALEN

Er werden 2 stalen rondgestuurd voor Borrelia-serologie: S/5664 en IS/18777. Onder dit laatste nummer werden verschillende stalen verstuurd naar de laboratoria met een paar en onpaar erkenningsnummer. De pare laboratoria ontvingen een staal dat reeds in de EKE 2009/2 verstuurd werd onder staalnummer S/1196; de onpare laboratoria ontvingen een staal dat reeds verstuurd werd in de EKE 2018/1 onder staalnummer S/7124.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

Staal S/5664

Een groep scouts gaat in de zomer op kamp in de Ardennen. Twee weken na hun terugkeer klaagt een 14-jarige deelnemer aan het kamp van jeuk op zijn onderbeen. Gezien de voorgeschiedenis van deelname aan een kamp, besluit de huisarts een bloedstaal af te nemen voor bepaling van Borrelia-antistoffen.

Staal IS/18777

Een week nadien vertoont een andere deelnemer aan het kamp een rode vlek op zijn been. Ook bij hem wordt een bloedstaal afgenomen

De verwachte resultaten waren:

S/5664:

IgG negatief

IgM negatief

Interpretatie: Interpretatie: Afwezigheid van Borrelia antistoffen. Bij een vroege infectie zijn er mogelijks nog geen antistoffen gevormd. Een follow-up staal na 2 à 4 weken kan aangewezen zijn indien klinisch relevant.

De interpretatie “negatieve serologie” wordt eveneens als correct beschouwd. Dit zal verder uitgewerkt worden in het commentaar.

IS/18777, pare labo's:

IgG negatief

IgM negatief

Interpretatie: Interpretatie: Afwezigheid van Borrelia antistoffen. Bij een vroege infectie zijn er mogelijks nog geen antistoffen gevormd. Een follow-up staal na 2 à 4 weken kan aangewezen zijn indien klinisch relevant.

De interpretatie “negatieve serologie” wordt eveneens als correct beschouwd. Dit zal verder uitgewerkt worden in het commentaar.

IS/18777, onpare labo's:

IgG positief

IgM negatief

Interpretatie: Positieve Borrelia serologie: dit wordt verder uitgewerkt in het commentaar.

6.1.2. DE DEELNEMERS

113 laboratoria (alle ingeschreven labo's) hebben een antwoord ingegeven. Ze voerden 234 testen uit op staal S/5664. De 72 pare laboratoria voerden 151 testen uit op staal IS/18777 en de 41 onpare laboratoria 86 testen.

De uitgevoerde testen kunnen als volgt gegroepeerd worden:

- IgG+M (één kit die beide antistoffen tegelijkertijd bepaalt)
- IgG:
 - ELISA, EIA, IFA, ELFA, CLIA, ...
 - blot bepalingen (immunoblot, dot blot, western blot)
- IgM:
 - ELISA, EIA, IFA, ELFA, CLIA, ...
 - blot bepalingen (immunoblot, dot blot, western blot)

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

Op staal S/5664 voerden 5 laboratoria 1 test uit, 101 laboratoria voerden 2 testen uit, 1 laboratorium 3 testen en 6 laboratoria 4 testen.

De verdeling van deze testen is als volgt:

- IgG+M: 6
- IgG: 114
 - "niet-blot": 107
 - blot: 7
- IgM: 114
 - "niet-blot": 107
 - blot: 7

Op staal IS/18777 voerden 2 pare laboratoria 1 test uit, 65 laboratoria voerden 2 testen uit, 1 laboratorium 3 testen en 4 laboratoria 4 testen.

De verdeling van deze testen is als volgt:

- IgG+M: 3
- IgG: 74
 - "niet-blot": 69
 - blot: 5
- IgM: 74
 - "niet-blot": 69
 - blot: 5

Op staal IS/18777 voerden 3 onpare laboratoria 1 test uit, 34 laboratoria voerden 2 testen uit, 2 laboratoria 3 testen 1 laboratorium 4 testen en 1 laboratorium 5 testen.

De verdeling van deze testen is als volgt:

- IgG+M: 3
- IgG: 43
 - "niet-blot": 40
 - blot: 3
- IgM: 40
 - "niet-blot": 38
 - blot: 2

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 2022/1.

N testen	Aard kit	Type techniek	S/5664	IS/18777, pare labo's	IS/18777, onpare labo's
1 test	Totale As	Niet-blot	5	2	3
2 testen	IgG en IgM	Niet-blot – niet-blot	100	65	33
		blot – blot	1	-	1
3 testen	Tot. As. en IgG en IgM	Niet-blot – blot – blot	1	1	
	2 x IgG en IgM	Niet-blot – niet-blot - niet-blot	-	-	2
4 testen	2 x IgG en 2 x IgM	Niet-blot – niet-blot – niet-blot – niet-blot	1	-	-
		Niet-blot – blot – niet-blot – blot	5	4	1
5 testen	2 x IgG en 2 x IgM	Niet-blot – niet-blot – blot - niet-blot – niet-blot	-	-	1
Totaal			113	72	41

Opmerking: het labo dat de combinatie van IgG blot en IgM en blot uitvoert, vermeldde in een opmerking "Deze blot zou worden uitgevoerd i.g.v. positieve IgG of IgM screening in zusterlabo. Screening gebeurt dus niet in dit labo."

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/5664	IS/18777, pare labo's	IS/18777, onpare labo's
Euroimmun	Borrelia Lyme Screen ELISA (IgGM)	4	2	2
Immunitics (verdelers Lucron)	C6 B. burgdorferi (Lyme) ELISA	1	-	1
Zeus	Borrelia Vlse1/pepC10 IgG/IgM ELISA	1	1	-
Totaal		6	3	3

6.1.3.2. Voor IgG

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

Fabrikant	Kit	S/5664	IS/18777, pare labo's	IS/18777, onpare labo's
Niet blot testen				
bioMérieux	VIDAS Lyme IgG	31	20	13
Diasorin	Liaison Borrelia IgG	59	36	23
	B. burgdorferi IgG Elisa	1	1	-
Diesse (verdeler BMD)	Chorus trio IgG	3	2	1
Euroimmun (verdeler Biognost)	Borrelia Plus VLsE Elisa IgG	2	1	1
	Anti-Borrelia Select ELISA IgG	1	-	1
Mikrogen	recomBead Borrelia IgG	1	1	-
Novatec (verdeler BMD)	Lyme Borrelia IgG EIA	1	-	1
Orgentec	Anti-Borrelia IgG	3	3	-
	Alegria Anti-Borrelia IgG	2	2	-
Serion (verdeler Labconsult)	B. burgdorferi classic ELISA IgG	1	1	-
Siemens	Enzygnost Lyme link VLsE IgG	1	1	-
Vircell	Borrelia Virclia IgG	1	1	-
Totaal niet blot		107	69	40
Blot testen				
Euroimmun (verdeler Biognost)	Borrelia Euroline RN-AT IgG	3	2	1
	Euroline WB Borrelia IgG	2	1	2
Mikrogen	recomLine Borrelia IgG	1	1	
Virotech	Borrelia LINE IgG Immunoblot	1	1	
Totaal blot		7	5	3
Totaal		114	74	43

6.1.3.3. Voor IgM

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

Fabrikant	Kit	S/5664	IS/18777, pare labo's	IS/18777, onpare labo's
Niet blot testen				
bioMérieux	VIDAS Lyme IgM	30	20	10
Diasorin	Liaison Borrelia IgM II	55	34	21
	Liaison Borrelia IgM Quant	5	3	2
Diesse (verdelers BMD)	Chorus Borrelia IgM	3	2	1
Euroimmun (verdelers Biognost)	Borrelia Elisa (IgM)	4	1	3
Mikrogen	recomBead Borrelia IgM	1	1	-
Novatec (verdelers BMD)	Lyme Borrelia IgM EIA	1	-	1
Orgentec	Anti-Borrelia IgM	3	3	-
	Alegria Anti-Borrelia IgM	2	2	-
Serion (verdelers Labconsult)	B. burgdorferi classic ELISA IgM	1	1	-
Siemens	Enzygnost Borreliosis IgM	1	1	-
Vircell	Borrelia Virclia IgG	1	1	-
Totaal niet blot		107	69	38
Blot testen				
Euroimmun (verdelers Biognost)	Borrelia Euroline RN-AT IgM advanced	2	1	1
	Borrelia Euroline RN-AT IgM	1	1	-
	Euroline WB Borrelia IgM	1	1	-
	WB B. afzelii IgM	1	-	1
Mikrogen	recomLine Borrelia IgM	1	1	-
Virotech	Borrelia LINE IgM Immunoblot	1	1	-
Totaal blot		7	5	2
Totaal		114	74	40

6.1.4. RESULTATEN

6.1.4.1. Staal S/5664

6.1.4.1.1. IgG+M

Alle laboratoria die de totale antistoffen bepaalden, bekwamen een negatief resultaat voor staal S/5664.

6.1.4.1.2. IgG

Niet-blot bepalingen

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de niet-blot bepalingen voor de IgG (laboratoria die 2 kits gebruikten bekwamen met beiden een negatief resultaat).

Blot bepalingen

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

6.1.4.1.3. IgM

Niet-blot bepalingen

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de niet-blot bepalingen voor de IgM (laboratoria die 2 kits gebruikten bekwamen met beiden een negatief resultaat).

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/5664.

Interpretatie	Aantal laboratoria
Afwezigheid van Borrelia antistoffen. Bij een vroege infectie zijn er mogelijk nog geen antistoffen gevormd. Een follow-up staal na +/- 2 à 4 weken kan aangewezen zijn indien klinisch relevant.	82
Negatieve Borrelia serologie.	30
Het serologisch resultaat is onbeslist, indien klinisch verdacht is een opvolgstaal aangewezen. ¹	1
Totaal	113

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

6.1.4.1.4.2. Opmerkingen gegeven door laboratoria die "Afwezigheid van antistoffen" of "Negatieve Borrelia serologie" vermeld hebben

63 laboratoria die het antwoord "Afwezigheid 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/5664.

Opmerking	Aantal laboratoria
Een bevestiging door middel van Blot is niet noodzakelijk	39
Bij een typische erythema migrans is normaliter therapie vereist zonder antistofbepaling	20
Bij een typische erythema migrans is normaliter therapie vereist zonder antistofbepaling & Een bevestiging door middel van Blot is niet noodzakelijk	2
Een bevestiging door middel van Blot is noodzakelijk	1
Graag controlestaal.	1
Totaal	63

22 laboratoria die het antwoord “Negatieve Borrelia serologie” verstrekten, gaven een opmerking. Een overzicht hiervan wordt weergegeven in onderstaande tabel

Tabel 6.1.8. Opmerkingen bij het antwoord “Negatieve Borrelia serologie” voor staal S/5664.

Opmerking	Aantal laboratoria
Een bevestiging door middel van Blot is niet noodzakelijk	18
Bij een typische erythema migrans is normaliter therapie vereist zonder antistofbepaling	3
Het laboratorium heeft zelf reeds een Blot uitgevoerd	1
Totaal	22

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

- IgG blot en IgM blot (wel IgG niet-blot en IgM niet-blot): 5 labo's
- IgG blot en IgM blot (wel IgG+IgM): 1 labo
- IgG blot en IgM blot (cfr verklaring onder tabel 1.1.): 1 labo
- IgG niet-blot en IgM niet-blot (enige testen) 4 labo's
- IgG+IgM (enige test): 1 labo

6.1.4.2. Staal IS/18777, pare labo's

6.1.4.2.1. IgG+M

Alle pare laboratoria die de totale antistoffen bepaalden, bekwamen een negatief resultaat voor staal IS/18777.

6.1.4.2.2. IgG

Niet-blot bepalingen

68 laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de niet-blot bepalingen voor de IgG en 1 laboratorium en positief resultaat.

Blot bepalingen

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

6.1.4.2.3. IgM

Niet-blot bepalingen

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de niet-blot bepalingen voor de IgM.

Blot bepalingen

Alle laboratoria die een blotbepaling uitvoerden voor de IgM bekwamen een negatief 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/18777, pare laboratoria

Interpretatie	Aantal laboratoria
Afwezigheid van Borrelia antistoffen. Bij een vroege infectie zijn er mogelijk nog geen antistoffen gevormd. Een follow-up staal na □ 2 à 4 weken kan aangewezen zijn indien klinisch relevant.	54
Negatieve Borrelia serologie.	15
Het serologisch resultaat is onbeslist, indien klinisch verdacht is een opvolgstaal aangewezen. ¹	2
Het serologisch resultaat duidt op een recente infectie, passend bij de klinische info. ²	1
Totaal	72

¹ Technische resultaten van deze laboratoria: IgG niet-blot en IgM niet-blot negatief.

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

Opmerkingen gegeven door laboratoria die “Afwezigheid van antistoffen” of “Negatieve Borrelia serologie” vermeld hebben

44 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/18777, pare laboratoria.

Opmerking	Aantal laboratoria
Bij een typische erythema migrans is normaliter therapie vereist zonder antistofbepaling	33
Een bevestiging door middel van Blot is niet noodzakelijk	9
Bij een typische erythema migrans is normaliter therapie vereist zonder antistofbepaling & Een bevestiging door middel van Blot is niet noodzakelijk	2
Totaal	44

12 laboratoria die het antwoord “Negatieve Borrelia serologie” verstrekten, gaven een opmerking. Een overzicht hiervan wordt weergegeven in onderstaande tabel

Tabel 6.1.11. Opmerkingen bij het antwoord “Negatieve Borrelia serologie” voor staal IS/18777, pare laboratoria.

Opmerking	Aantal laboratoria
Een bevestiging door middel van Blot is niet noodzakelijk	7
Bij een typische erythema migrans is normaliter therapie vereist zonder antistofbepaling	4
Het laboratorium heeft zelf reeds een Blot uitgevoerd	1
Totaal	12

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

IgG blot en IgM blot (wel IgG niet-blot en IgM niet-blot):	4 labo's
IgG blot en IgM blot (wel IgG+IgM):	1 labo
IgG niet-blot en IgM niet-blot (enige testen)	2 labo's
IgG+IgM (enige test):	1 labo

6.1.4.3. Staal IS/18777, onpare labo's

6.1.4.3.1. IgG+M

Alle onpare laboratoria die de totale antistoffen bepaalden, bekwamen een positief resultaat voor staal IS/18777.

6.1.4.3.2. IgG

Niet-blot bepalingen

Alle onpare laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de niet-blot bepalingen voor de IgG (laboratoria die 2 kits gebruikten bekwamen met beiden een positief resultaat).

Voor VIDAS Lyme IgG hebben we de mediaan, minimum en maximum berekend: n = 13, mediane index = 6.80, minimum en maximum bedroegen respectievelijk 6.44 en 7.58.

Voor Liaison Borrelia IgG antwoordden 21 laboratoria ≥ 240 AU/mL, 1 laboratorium > 220 AU/mL en 1 laboratorium 2065 AU/mL.

Blot bepalingen

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

6.1.4.3.3. IgM

Niet-blot bepalingen

Het overzicht van de resultaten wordt weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.12. Resultaten van de niet-blot bepalingen van IgM voor staal IS/18777, onpare laboratoria.

Resultaat	N labo's
Negatief ¹	27
Borderline	1
Positief	9
Totaal	37

¹ Het laboratorium dat twee technieken gebruikte, bekwam met beide een negatief resultaat.

Alle "niet-negatieve" resultaten werden bekomen met de kit VIDAS Lyme IgM.

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.

Blot bepalingen

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

6.1.4.3.4 Interpretatie

6.1.4.3.4.1. Eigenlijke interpretatie

Een overzicht van de interpretaties wordt weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.13. Interpretaties voor staal IS/18777, onpare stalen

Interpretatie	Aantal laboratoria
Het serologisch resultaat past bij een vroeger doorgemaakte infectie.	17
Het serologisch resultaat past bij een vroeger doorgemaakte infectie; op basis van kliniek kan dit een vals negatief resultaat zijn voor IgM, Bevestiging van zowel IgG als IgM met Blot zijn vereist om een acute infectie uit te sluiten. ¹	1
Het serologisch resultaat past bij een vroeger doorgemaakte infectie. Een nieuwe infectie kan nog niet uitgesloten worden. Een follow-up staal na 2 à 4 weken kan aangewezen zijn indien klinisch relevant. Bij een typische erythema migrans is normaliter therapie vereist zonder antistofbepaling. ²	1
Het serologische resultaat past bij een vroeger doorgemaakte infectie. Een herinfectie kan echter niet worden uitgesloten, indien klinisch verdacht is een opvolgstaal aangewezen. ³	1
Het serologische resultaat past bij een vroeger doorgemaakte infectie. Een recente infectie kan ondanks de niet-detecteerbare IgM niet formeel worden uitgesloten op basis van de kliniek. ⁴	1
Het serologisch resultaat duidt op een recente infectie, passend bij de klinische info. ⁵	15
Afhankelijk van het resultaat van de blot kan het resultaat geïnterpreteerd worden als een actieve infectie (sterk positieve Blot) of als een restititer na een doorgemaakte infectie (zwakke Blot). ⁶	1
Gezien de klinische inlichtingen zou het kunnen gaan om een recente infectie zelfs in afwezigheid van IgM. (tekenbeet, EM, ...) ⁷	1
Gezien geen duidelijke kliniek van EM, is een blot ter confirmatie noodzakelijk voor interpretatie ⁸	1
Het screeningsresultaat is positief, maar dit dient nog bevestigd en uitgewerkt te worden met blot ⁹	1
Het serologisch resultaat is onbeslist, indien klinisch verdacht is een opvolgstaal aangewezen. ¹⁰	1
Totaal	41

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

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

⁵ Technische resultaten van deze laboratoria: 8 labo's IgG niet blot en IgM niet blot positief, 1 labo IgG niet blot positief en IgM niet blot borderline, 4 labo's IgG niet blot positief en IgM niet blot negatief, 2 labo's IgG+IgM positief.

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

⁷ Technische resultaten van dit laboratorium: IgG blot en niet blot positief en IgM blot en niet blot negatief.

⁸ Technische resultaten van dit laboratorium: IgG niet blot positief en IgM niet blot negatief.

⁹ Technische resultaten van dit laboratorium: IgG+IgM positief

¹⁰ Technische resultaten van dit laboratorium: IgG niet blot positief en IgM niet blot negatief.

Opmerking: interpretaties gegeven door de laboratoria die een niet-negatief resultaat bekwamen voor de IgM:

- 8 positief en 1 borderline: "Het serologisch resultaat duidt op een recente infectie, passend bij de klinische info."
- 1 positief: "Het serologisch resultaat past bij een vroeger doorgemaakte infectie."

6.1.4.3.4.2. Opmerkingen bij "Het serologisch resultaat past bij een vroeger doorgemaakte infectie"

Alle 17 laboratoria die het antwoord "Het serologisch resultaat past bij een vroeger doorgemaakte infectie" verstrekten, gaven een opmerking. Een overzicht hiervan wordt weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.1.14. Opmerkingen bij het antwoord "Het serologisch resultaat past bij een vroeger doorgemaakte infectie" voor staal IS/18777, onpare laboratoria.

Opmerking	Aantal laboratoria
Een bevestiging door middel van Blot is noodzakelijk	7
Bij een typische erythema migrans is normaliter therapie vereist zonder antistofbepaling	6
Het laboratorium heeft zelf reeds een Blot uitgevoerd	2
Bij een typische erythema migrans is normaliter therapie vereist zonder antistofbepaling & Een bevestiging door middel van Blot is niet noodzakelijk	1
Een bevestiging door middel van Blot is niet noodzakelijk	1
Totaal	17

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

- IgM blot (wel IgG niet-blot, IgG blot en IgM niet-blot): 1 labo
- IgG blot en IgM blot (cfr verklaring onder tabel 1.1.): 1 labo
- IgG niet-blot en IgM niet-blot (enige testen) 1 labo
- IgG+IgM (enige test): 1 labo

6.1.5. COMMENTAAR OP DE ENQUÊTE

2 stalen voor de bepaling van *Borrelia*-serologie werden bezorgd aan de deelnemende laboratoria, waarbij staal S/5664 geen aantoonbare antistoffen bevatte. Staal IS/18777 testte voor de pare labo's eveneens negatief, maar voor de onpare labo's werd IgG verwacht positief te testen.

Staal 5664 werd door alle deelnemers zowel voor IgG als voor IgM negatief beantwoord. Variatie was er echter wel in de interpretatie, waarbij 73% de verwachte commentaar "Afwezigheid van *Borrelia* antistoffen. Bij een vroege infectie zijn er mogelijks nog geen antistoffen gevormd. Een follow-up staal na 2 à 4 weken kan aangewezen zijn indien klinisch relevant" meegaf, en 27% "Negatieve *Borrelia* serologie". Na een omstandige uitleg van 1 van de deelnemers, besluiten we dat beide antwoorden aanvaard worden. De kliniek bij presentatie was niet specifiek voor een *Borrelia*-infectie (enkel sprake van jeuk), waardoor het suggereren van een follow-up staal bij ongewijzigde klinische presentatie niet wenselijk is.

Staal 18777 pare labo's: Op 1 labo na bekwamen alle deelnemers een negatief resultaat voor IgM en IgG. De meerderheid verkoos hier de commentaar "Afwezigheid van *Borrelia* antistoffen. Bij een vroege infectie zijn er mogelijks nog geen antistoffen gevormd. Een follow-up staal na 2 à 4 weken kan aangewezen zijn indien klinisch relevant" (75%), gevolgd door "Negatieve *Borrelia* serologie" (21%). 2 laboratoria gaven aan dat het serologisch resultaat onbeslist is (ondanks negatieve testen), en het labo dat een positief resultaat bekwam voor IgG antwoordde dat dit duidt op een recente infectie. Ook hier kunnen er heel wat bedenkingen worden opgeworpen. Vooreerst: de vondst van specifiek IgG tegen *Borrelia* is niet tekenend voor een recente infectie. Gezien het vroegtijdig optreden van erythema migrans (EM) in het verloop van de infectie is er meestal nog geen enkele antistofrespons. Een typische EM is een klinische (en geen serologische) diagnose die zou moeten leiden tot behandeling. Bijgevolg kan men discussiëren over de boodschap "Een follow-up staal na 2 à 4 weken kan aangewezen zijn indien klinisch relevant": na therapie is een serologische opvolging immers eveneens zinloos. Voor dit staal wordt ook hier de commentaar "Negatieve *Borrelia* serologie" aanvaard, bij voorkeur aangevuld met wat extra informatie m.b.t. de klinische diagnostiek.

Staal 18777 onpare labo's: alle labo's rapporteerden de verwachte aanwezigheid van IgG, en 73% de afwezigheid van IgM. Het was opvallend dat alle vals-positieve IgM resultaten hierbij afkomstig waren van Vidas gebruikers. De firma werd hierop gecontacteerd voor een mogelijke verklaring. De grote variatie in de meegegeven interpretaties bevestigt de moeilijkheden en beperkingen van de serologie. De meest frequente rapportering was het verwachte antwoord "Het serologisch resultaat past bij een vroeger doorgemaakte infectie" (40%), verrassend gevolgd door "Het serologisch resultaat duidt op een recente infectie, passend bij de klinische info" (37%), grotendeels te verklaren door de laboratoria met niet-negatieve IgM. Ook hier geldt de opmerking dat een typische EM geen bevestiging door serologie nodig heeft, en zelfs de vondst van IgG zonder IgM zou in dit geval ook geen (her)infectie kunnen uitsluiten. Een behandeling blijft aangewezen bij klinische presentatie met EM. Indien er twijfel bestaat over het letsel en men ervoor kiest om nog niet te behandelen, kan een opvolgstaal aangewezen zijn om een eventuele IgG stijging te objectiveren.

Borrelia burgdorferi is zoals gekend een spirocheet die via tekenbeten humane infecties kan veroorzaken. In afwezigheid van de typische klinische symptomen waaronder erythema migrans berust de diagnose van Lyme-gerelateerde ziektebeelden grotendeels op het aantonen van specifieke antistoffen. De huidige teststrategie berust in de meeste gevallen op een tweestapsalgoritme: enerzijds het traditionele algoritme waarbij een (gevoelige) enzymimmunoassay (EIA) of een immunofluorescentieassay (IFA), igv twijfelachtig of positief resultaat, wordt gevolgd door een (meer specifieke) Western Blot (IgM en/of IgG), en anderzijds een minder vaak gebruikt protocol waarbij 2 opeenvolgende EIA's worden ingezet. In Europa wordt meestal gekozen voor het traditionele protocol, het alternatieve wordt voornamelijk in de VS gebruikt. Daarnaast is er in de literatuur melding van een eenstapsprotocol met een C6 peptide ELISA, waarbij een even hoge gevoeligheid(?), maar iets lagere specificiteit t.o.v. het tweestapsprotocol wordt beschreven. Gezien de verschillende epidemiologische situatie in de VS mogen we niet zomaar dezelfde conclusies te trekken voor Europa, immers daar waar er in de VS vnl. *B. burgdorferi sensu strictu* circuleert zien we in Europa hoofdzakelijk *B. afzelli* en *B. garinii* en slechts in een minderheid *B. burgdorferi sensu strictu*. Dit maakt het extrapoleren van teststrategieën moeilijk. Bovendien adviseert de CDC ook op dit moment nog een tweestapsalgoritme, dit blijft voorlopig ook onze aanbeveling.

Tenslotte willen we nogmaals benadrukken dat het aanvragen van *Borrelia* serologie in afwezigheid van specifieke klinische tekens dient vermeden worden, gezien zowel het risico op vals-positiviteit als de op de achtergrond aanwezige seroprevalentie (die in bepaalde regio's en bij bepaalde beroepsgroepen kan oplopen tot meer dan 20%).

Natasja Van Gasse, ZNA, Antwerpen

6.2. Syfilis

6.2.1. DE STALEN

Er waren 2 gelyofiliseerde plasmamonsters, IS18099 en IS18095 waarop antistoffen tegen syfilis bepaald dienden te worden.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

IS/18099: Een man van 35 jaar gaat bij zijn nieuwe huisarts met de vraag naar een SOA screening omwille van een hoog risico-contact een maand voordien. Hoewel hij geen symptomen heeft maakt hij zich immers toch ongerust.

IS/18095: Een jaar nadien komt dezelfde man bij de huisarts omwille van een zweertje aan de mond.

IS/18099:

Treponemale testen: positief

Niet treponemale testen: negatief

Interpretatie: Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een laat stadium van infectie, doorgemaakte of behandelde syfilis. Te toetsen aan dossier, voorgaande therapie en kliniek.

IS/18095:

Treponemale testen: positief

Niet treponemale testen: positief

Interpretatie: Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een re-infectie. Behandeling aangewezen.

De EKE was eveneens vergezeld van een vragenlijst m.b.t. de gebruikte algoritmes en kits door de laboratoria.

6.2.2. DE DEELNEMERS

128 laboratoria (op 129 ingeschreven labo's of 99.2%) hebben een antwoord ingegeven.

Op staal IS/18099 voerden de laboratoria 287 testen uit, met name 181 treponemale testen (TT) (169 totale AS, 8 IgG en 4 IgM) en 106 niet-treponemale testen (NTT).

19 laboratoria voerden 1 test uit, 66 laboratoria voerden 2 testen uit, 38 laboratoria 3 testen, 3 laboratoria 4 testen en 2 laboratoria 5 testen.

Op staal IS/18095 voerden de laboratoria 287 testen uit, met name 181 treponemale testen (169 totale AS, 8 IgG en 4 IgM) en 106 niet-treponemale testen.

19 laboratoria voerden 1 test uit, 67 laboratoria voerden 2 testen uit, 36 laboratoria 3 testen, 4 laboratoria 4 testen en 2 laboratoria 5 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/18099	IS/18095
1 test uitgevoerd	1 x treponemaal	19	19
2 testen uitgevoerd	1 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	63	64
	2 x treponemaal	3	3
3 testen uitgevoerd	2 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	38	36
4 testen uitgevoerd	3 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	3	4
5 testen uitgevoerd	4 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	2	2
Totaal		128	128

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

Type test	IS/18099	IS/18095
Eén test: treponemaal	19	19
Combinatie treponemaal + niet-treponemaal	106	106
Combinatie enkel treponemaal	3	3
Totaal	128	128

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 2022/1

Fabrikant	Kit	IS/18099	IS/18095
Niet treponemale testen			
Arlington	ASI RPR Card	8	8
Becton Dickinson	Macro-Vue RPR Card Test	19	18
	VDRL Cardioliipin Ag	1	1
Biokit	RPR-Reditest	5	6
bioMérieux	RPR-nosticon II	2	2
BioRad	RPR100	12	12
Chemelex	RPR Carbon	6	6
Diesse	RPR Colour	1	1
K Labkit	RPR Carbon 250 Tests	2	2
Launch Diagnostics	RPR Card	1	1
Omega Diagnostics	Immutrep RPR	3	3
	Immutrep Carbon antigen	2	2
Plasmatec	RPR Test kit	6	6
Roche	RPR Reagent kit	1	1
Sekisui	RPR (Non-Treponemal) assay	1	1
Spinreact	RPR Carbon	22	22
Tulip Diagnostics	Carbogen (RPR Card Test)	14	14
Totaal NTT		106	106
Treponemale testen			
Abbott	Architect Syphilis TP	18	18
	Alinity i Syphilis TP	13	13
Alphadia	Treponema pallidum IgG	1	1
Axis Shield	Microsyph TPHA	3	3
BioRad	TPHA 200	4	4
	Syphilis Total Ab	1	1
DiaSorin	Liaison Treponema Screen	30	30
Diesse	Chorus Syphilis screen recombinant	3	3
Euroimmun	Euroline WB Treponema pallidum (+cardiolipin) IgG	1	1
	Euroline WB Treponema pallidum (+cardiolipin) IgM	1	1
	WB Treponema pallidum IgG	1	1
	Treponema pallidum FTA-Abs IgG	1	1
	Treponema pallidum FTA-Abs IgM	1	1
Fujirebio	Serodia TPPA	37	36
	Inno-Lia Syphilis Score	2	2
Mikrogen	RecomLine Treponema IgG	2	2
	RecomLine Treponema IgM	2	2
Newmarket Biomedical	Newbio-PK TPH	2	2
Omega Diagnostics	Immutrep TPHA	-	1
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros Immunodiagnosics Products Syphilis TPA	3	3
Oxoid	TPHA test	1	1
Roche	Elecsys syphilis	25	25
	Cobas syphilis	13	13
Shenzhen YHLO	Anti-TP I – Flash	1	1
Siemens	ADVIA Centaur Syph	5	5
	Immulate 2000 Syphilis screen	4	4
	Atellica Syphilis	4	4
	Cellognost Syphilis H Combipack	1	1
Standard Diagnostics	Syphilis 3.0 Rapid test	1	1
Totaal TT		181	181
Totaal		287	287

6.2.4. RESULTATEN

6.2.4.1. Staal IS/18099

6.2.4.1.1. Niet-treponemale testen

103 laboratoria bekwamen een negatief resultaat. Twee laboratoria bekwamen positief resultaat. Eén laboratorium bekwam een borderline resultaat.

6.2.4.1.2. Treponemale testen

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

127 laboratoria bekwamen een positief resultaat (laboratoria die 2 kits gebruikten, bekwamen met beide een positief resultaat). Eén laboratorium bekwam een negatief 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 6.2.4. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor de treponemale testen voor staal IS/18099 voor de meest gebruikte kits.

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off voor positiviteit
Alinity i Syphilis TP (index)	13	11.40	10.51	12.32	1.00
Architect Syphilis TP (index)	18	13.19	11.28	16.22	1.00
Liaison Treponema Screen (index) ¹	29	26.6	24.0	34.9	1.1 (0.9 – 1.1 = borderline)
Serodia-TPPA (titer) ²	36	1/320	1/80	1/2560	Pos. resultaat in « test well »
Cobas syphilis (index) ²	12	61.42	57.00	73.24	1.00
Elecsys syphilis (index)	25	60.70	54.70	66.56	1.00

¹ Tevens antwoordde één labo een titer >1/1280.

² Tevens antwoordde één labo een titer van 0 (dit is het labo dat de interpretatie “negatief” gaf).

³ Tevens antwoordde één labo een titer van 1/640.

b) Resultaten van de testen die de IgG bepalen.

Zes laboratoria bekwamen een positief resultaat en 2 een borderline.

c) Resultaten van de testen die de IgM bepalen.

Drie laboratoria bekwamen een negatief resultaat en 1 een borderline.

6.2.4.1.3. Interpretaties

126 laboratoria hebben een klinische interpretatie gegeven. Een overzicht hiervan wordt in onderstaande tabel weergegeven.

Tabel 6.2.5. Interpretatie voor staal IS/18099 (syfilis).

Interpretatie	Aantal
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een laat stadium van infectie, doorgemaakte of behandelde syfilis. Te toetsen aan dossier, voorgaande therapie en kliniek.	84
Aanwezigheid van antilichamen compatibel met een erg vroege infectie van 1 à 3 weken voordien. Te toetsen aan dossier, voorgaande therapie en kliniek. ¹	15
Vroeg stadium behandelde of niet behandelde syfilis, met kliniek te vergelijken. Controle over 2 weken. ²	1
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor ofwel een !!!vroegtijdige!!! fase van een recente infectie, ofwel een doorgemaakte of behandelde syfilis. ³	1
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor ofwel een genezen syfilis ofwel een zeer vroegtijdige infectie. Resultaat te toetsen aan de klinische context van de patiënt. ⁴	1
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een primaire infectie. Behandeling aangewezen. ⁵	3
Mogelijkheid van een oude en behandelde syfilis. Een recente infectie kan niet uitgesloten worden. Aanwezigheid van een sjanker? Als recent risico contact, te controleren binnen 1 à 3 weken. ⁶	1
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een laattijdige fase of een recente infectie ofwel een doorgemaakte of een behandelde syfilis. Voorzichtigheid is aangewezen: anamnese en klinisch onderzoek zijn onontbeerlijk!!! ⁷	1
Aanwezigheid van antistoffen compatibel met ofwel: - een recente infectie van 1 à 3 weken voordien. Te confirmeren met het dossier de voorgaande behandeling en de kliniek. Een tweede staalname afgenomen minstens 1 week later is noodzakelijk om een mogelijke seroconversie aan te tonen - een doorgemaakte of behandelde syfilis. ⁸	1
Op onze site voeren wij enkel serologie uit in het kader van transplantatie. De aanwezigheid van antistoffen (op Cobas) zou kunnen compatibel zijn met een laattijdige fase of een recente syfilis of een doorgemaakte of behandelde syfilis. Gezien wij echter geen NTT uitvoeren, kunnen wij geen onderscheid maken tussen een recente of een oude infectie. Wij volgen niet het klassieke algoritme voor onze patiënten dat op onze hoofdzetel wordt uitgevoerd. ⁹	1
Aanwezigheid van TPHA antilichamen suggestief voor infectie. Stadium infectie niet te bepalen aangezien op onze site geen RPR wordt uitgevoerd (doorstuur naar de hoofdzetel). ¹⁰	1
Aanwezigheid van TPHA antilichamen, aan te vullen met RPR voor onderscheid actieve of doorgemaakte/behandelde syfilis. ¹¹	1
Positief resultaat. Vereist complementaire testen voor een finale interpretatie (worden uitbesteed) ¹²	1
Syfilis screening positief : bevestiging door TPHA en VDRL lopende (deze 2 testen worden uitbesteed) ¹³	1
Aanwezigheid van antilichamen. Staal doorgestuurd voor RPR bepaling. ¹⁴	1
antistoffen aantoonbaar; VDRL wordt uitgevoerd (doorstuuranalyse) ¹⁵	1
Interpretatie niet mogelijk gezien enkel TT uitgevoerd worden ¹⁶	10
Geen antilichamen detecteerbaar ¹⁷	1
Totaal	126

¹ Analytische resultaten van deze laboratoria: TT positief & NTT negatief.

² Analytische resultaten van dit laboratorium: TT & NTT positief.

³ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief & NTT negatief.

⁴ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief & NTT negatief.

⁵ Analytische resultaten van deze laboratoria: 1 labo: TT positief & NTT negatief; 2 labo's: TT positief, geen NTT uitgevoerd.

⁶ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief & NTT negatief.

⁷ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief & NTT negatief.

⁸ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief & NTT negatief.

⁹ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief, geen NTT uitgevoerd.

¹⁰ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief, geen NTT uitgevoerd.

- ¹¹ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief, geen NTT uitgevoerd.
- ¹² Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief, geen NTT uitgevoerd.
- ¹³ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief, geen NTT uitgevoerd.
- ¹⁴ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief, geen NTT uitgevoerd.
- ¹⁵ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief, geen NTT uitgevoerd.
- ¹⁶ Analytische resultaten van deze laboratoria: TT positief, geen NTT uitgevoerd
- ¹⁷ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT & NTT negatief.

Enkele laboratoria die de interpretatie “Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een laat stadium van infectie, doorgemaakte of behandelde syfilis. Te toetsen aan dossier, voorgaande therapie en kliniek.” vermeldden, gaven in de vrije tekst een bijkomende opmerking:

- Het profiel pleit eerder voor een « serologisch litteken » van een oude infectie maar wordt soms vastgesteld bij een primaire infectie. Op te volgen via serologische controles
- Dit kan compatibel zijn met een oude, al dan niet behandelde infectie. Maar RPR kan ook pas na 4-6 weken positief worden. Ik zou dus opvolgstaal vragen en/of polsen of de patiënt reeds een syfilis-infectie in het verleden gehad heeft.
- Een primaire fase met laattijdig verschijnen van VDRL t..o.v. de TT moet uitgesloten worden. Een serologische controle binnen 4 weken is aangeraden in geval van klinisch vermoeden
- Maar geen symptomen... Normaal zouden we de TPHA als test met een tweede test TPPA laten confirmeren. Indien deze tweede test neg==> zou de TPHA ook vals pos kunnen zijn, en zijn er dan ook geen as detecteerbaar.

Enkele laboratoria die de interpretatie “Aanwezigheid van antilichamen compatibel met een erg vroege infectie van 1 à 3 weken voordien. Te toetsen aan dossier, voorgaande therapie en kliniek.” vermeldden, gaven in de vrije tekst een bijkomende opmerking:

- Tweede afname aangewezen
- “Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een laat stadium van infectie, doorgemaakte of behandelde syfilis. Te toetsen aan dossier, voorgaande therapie en kliniek.” Niet uitgesloten
- De treponemale test kan tot 1 tot drie weken eerder positief zijn dan de non-treponemale test (VDRL) bij beginnende infectie. Daarom adviseren wij doorgaans bij sterke verdenking een opvolgstaal af te nemen pas na 1-2 weken
- Serologie controleren op een tweede staal (beginnende seroconversie ?). Te toetsen aan de klinische gegevens (uitsluiten van een doorgemaakte behandelde syfilis?)

De laboratoria die een afwijkend analytisch resultaat bekwamen gaven volden interpretaties:

- Positieve NTT
 - o Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een primaire infectie. Behandeling aangewezen.
 - o Vroeg stadium behandelde of niet behandelde syphilis, met kliniek te vergelijken. Controle over 2 weken
- Borderline NTT
 - o Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een laat stadium van infectie, doorgemaakte of behandelde syphilis. Te toetsen aan dossier, voorgaande therapie en kliniek.
- Negatieve TT
 - o Geen antilichamen detecteerbaar

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

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

6.2.4.2. Staal IS/18095

6.2.4.2.1. Niet-treponemale testen

104 laboratoria bekwamen een positief resultaat. Twee bekwamen een negatief resultaat.

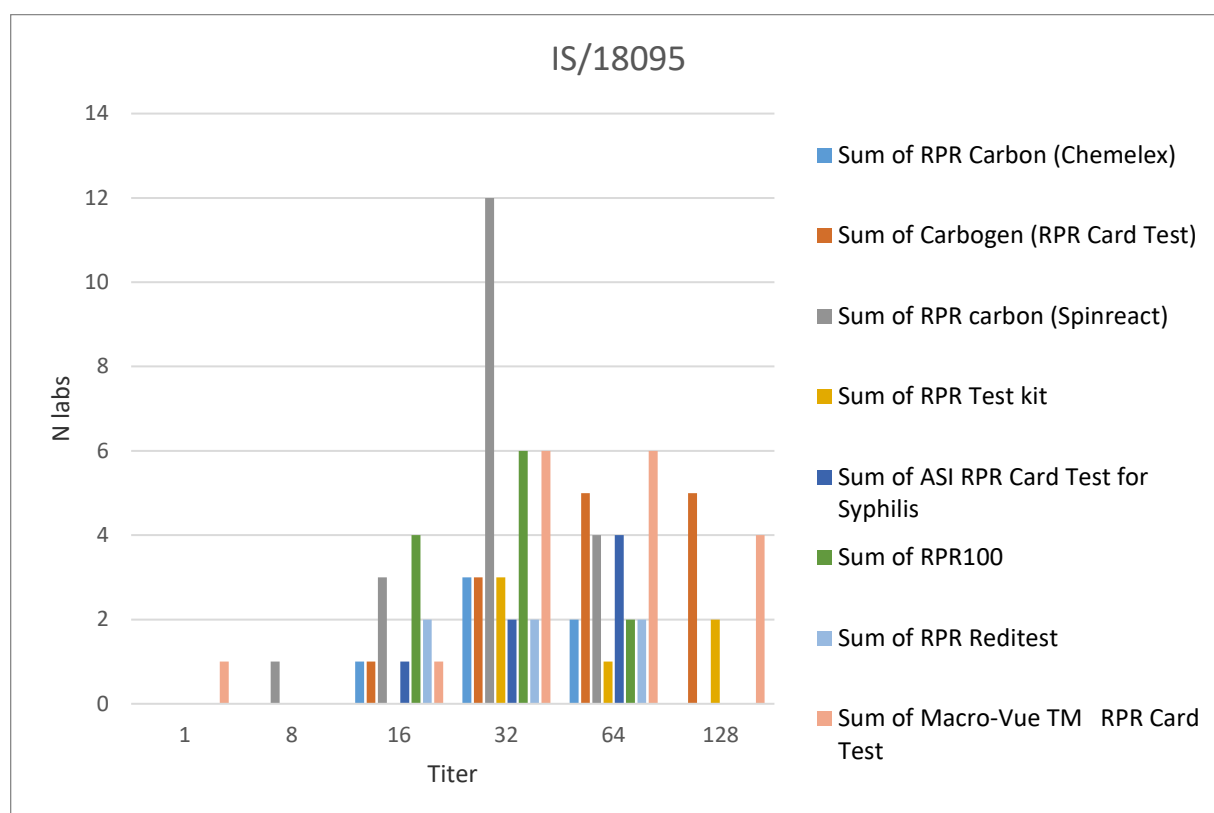
Voor de kits met minimum 6 gebruikers die het kwantitatief resultaat geantwoord hebben, hebben we mediaan, minimum en maximum berekend. Deze resultaten worden weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 6.2.6. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor de niet-treponemale testen voor staal IS/18095 voor de meest gebruikte kits.

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum
ASI RPR Card Test for Syphilis (titer) ¹	7	1/64	1/16	1/64
Macro-Vue RPR Card Test (titer)	18	1/64	1/1	1/256
RPR Reditest (titer)	6	1/32	1/16	1/64
RPR100 (titer)	12	1/32	1/16	1/64
RPR Carbon Chemelex (titer)	6	1/32	1/16	1/64
RPR Test kit (titer)	6	1/32 – 1/64	1/32	1/128
RPR carbon Spinreact (titer) ²	20	1/32	1/8	1/64
Carbogen (RPR Card Test) (titer)	14	1/64	1/16	1/128

¹ Eén labo gaf geen kwantitatief resultaat.

² Eén labo gaf geen kwantitatief resultaat. Eén laboratorium drukte het resultaat uit in Test Value.



6.2.4.2.2. Treponemale testen

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

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat (laboratoria die meerdere kits gebruikten, bekwamen met allen 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 6.2.7. Mediaan, minimum en maximum bekomen voor de treponemale testen voor staal IS/18095 voor de meest gebruikte kits.

Kit (eenheid)	N labo's	Mediaan	Minimum	Maximum	Cut-off voor positiviteit
Alinity i Syphilis TP (index)	13	17.57	10.80	18.90	1.00
Architect Syphilis TP (index)	18	23.01	14.28	27.66	1.00
Liaison Treponema Screen (index) ¹	29	41.6	28.4	48.3	1.1 (0.9 – 1.1 = borderline)
Serodia-TPPA (titer) ²	33	1/10240	1/640	1/163840	Pos. resultaat in « test well »
Cobas syphilis (index) ³	12	252	206	271	1.00
Elecsys syphilis (index)	25	241	192	272	1.00

¹ Tevens antwoordde één labo een titer >1/20480.

² Tevens antwoordden 3 labo's een titer >1/20480.

³ Tevens antwoordde één labo een titer van >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.

Eén laboratorium bekwam een negatief resultaat, 1 een positief en 2 een borderline.

6.2.4.2.3. Interpretaties

126 laboratoria hebben een klinische interpretatie gegeven. Een overzicht hiervan wordt in onderstaande tabel weergegeven.

Tabel 6.2.8. Interpretatie voor staal IS/18095

Interpretatie	Aantal
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een re-infectie. Behandeling aangewezen.	79
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een primaire infectie. Behandeling aangewezen. ¹	19
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve infectie. Behandeling aangewezen. Syfilis antilichamen blijven na een eerste infectie levenslang positief bij >90% van de behandelde patiënten. RPR/VDRL moet gebruikt worden voor opvolging van de behandeling en voor het opsporen van een herinfectie. ²	1
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een actieve syfilis. ³	1
Serologisch profiel compatibel met een acute infectie. Behandeling aangewezen. Resultaat te toetsen aan de klinische context van de patiënt. ⁴	1
Vroeg stadium behandelde of niet behandelde syfilis, met kliniek te vergelijken. Controle over 2 weken. ⁵	1
Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een laat stadium van infectie, doorgemaakte of behandelde syfilis. Te toetsen aan dossier, voorgaande therapie en kliniek. ⁶	6
Aanwezigheid van TPHA antilichamen suggestief voor infectie. Stadium infectie niet te bepalen aangezien op onze site geen RPR wordt uitgevoerd (doorstuur naar de hoofdzetel). ⁷	1
Aanwezigheid van TPHA antilichamen, aan te vullen met RPR voor onderscheid actieve of doorgemaakte/behandelde syfilis. ⁸	1
Op onze site voeren wij enkel serologie uit in het kader van transplantatie. De aanwezigheid van antistoffen (op Cobas) zou kunnen compatibel zijn met een laattijdige fase of een recente syfilis of een doorgemaakte of behandelde syfilis. Gezien wij echter geen NTT uitvoeren, kunnen wij geen onderscheid maken tussen een recente of een oude infectie. Wij volgen niet het klassieke algoritme voor onze patiënten dat op onze hoofdzetel wordt uitgevoerd ⁹	1
Aanwezigheid van antilichamen. Staal doorgestuurd voor RPR bepaling. ¹⁰	1
antistoffen aantoonbaar; VDRL wordt uitgevoerd (doorstuuranalyse) ¹¹	1
Positief resultaat. Vereist complementaire testen voor een finale interpretatie (worden uitbesteed) ¹²	1
Syfilis screening positief : bevestiging door TPHA en VDRL lopende (deze 2 testen worden uitbesteed) ¹³	1
waarde TPHA was >20480 (niet verder verdund). Zonder RPR is interpretatie niet mogelijk. ¹⁴	1
Interpretatie niet mogelijk gezien enkel TT uitgevoerd worden ¹⁵	10
Totaal	126

¹ Analytische resultaten van deze laboratoria: 18 labo's: TT & NTT positief; 1 labo TT positief en NTT negatief.

² Analytische resultaten van dit laboratorium: TT & NTT positief.

³ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT & NTT positief.

⁴ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT & NTT positief.

⁵ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT & NTT positief.

⁶ Analytische resultaten van deze laboratoria: 4 labo's: TT & NTT positief; 2 labo's TT positief en NTT niet uitgevoerd.

⁷ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief en NTT niet uitgevoerd.

⁸ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief en NTT niet uitgevoerd.

⁹ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief en NTT niet uitgevoerd.

¹⁰ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief en NTT niet uitgevoerd.

¹¹ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief en NTT niet uitgevoerd.

¹² Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief en NTT niet uitgevoerd.

¹³ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief en NTT niet uitgevoerd.

¹⁴ Analytische resultaten van dit laboratorium: TT positief en NTT niet uitgevoerd.

¹⁵ Analytische resultaten van deze laboratoria: TT positief en NTT niet uitgevoerd.

Enkele laboratoria die de interpretatie "Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een re-infectie. Behandeling aangewezen." vermeldden, gaven in de vrije tekst een bijkomende opmerking:

- IS 18095: De interpretatie is verschillend naargelang men beschouwt dat:
 - o het één jaar voordien een serologisch litteken van een oude infectie betreft, dan betreft het op dit moment een re-infectie
 - o het één jaar voordien een primaire fase van de infectie met VDRL betreft, dan betreft het in dit geval een primaire niet behandelde infectie
- Als men rekening houdt met een positieve TT serologie één jaar voordien, dan betreft het duidelijk een re-infectie.
- Doorstuur naar ITG (instituut voor tropische geneeskunde) Kronenburgstraat in Antwerpen; RPR > 1/4 en symptomen ==> vermoedelijk nog niet behandelde primaire infectie.

De laboratoria die een afwijkend analytisch resultaat bekwamen voor de NTT (negatief), maar wel een positief resultaat voor de TT gaven volden interpretaties:

- Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een primaire infectie. Behandeling aangewezen.
- Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een laat stadium van infectie, doorgemaakte of behandelde syfilis. Te toetsen aan dossier, voorgaande therapie en kliniek.

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

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

6.2.5. VRAAGSTELLING M.B.T. DE GEBRUIKTE ALGORITMES VOOR SYFILIS-DIAGNOSE

123 laboratoria hebben deze vraag beantwoord. 99 laboratoria kozen één van de voorgestelde opties. 24 verkozen een eigen suggestie.

Tabel 6.2.9. Gebruikte algoritmes voor syfilis-diagnose.

Algoritme	N labo's
Eerst TT indien TT positief 2de TT en NTT gecombineerd	24
NTT en/of TT volgens aanvraag behandelende arts	22
Steeds NTT en TT gecombineerd STOP	18
Eerst TT indien TT positief NTT indien NTT positief STOP, indien NTT negatief 2de TT	17
Eerst TT indien TT positief NTT STOP ongeacht resultaat NTT	9
Steeds NTT en TT gecombineerd TT positief en NTT negatief altijd 2de TT	7
Steeds NTT en TT gecombineerd TT positief en NTT negatief enkel 2de TT indien 1ste TT zwak reactief	2
Eerst TT als TT positief NTT.	2
Totale As : als positief worden VDRL en TPHA extern verzonden	1
Afhankelijk van de aanvraag: indien HA enkel TT aanvraagt en deze pos is voeren wij ook een NTT uit. Indien beide aangevraagd voeren wij beiden uit ongeacht het resultaat. Indien TT zwak pos is wordt deze steeds doorgestuurd voor confirmatie met een andere methode.	1
Eerst TT als - stop als + NTT als $NTT < 1/8$ 2 ^e NTT als $NTT > 1/8$ = actieve infectie	1
Eerst TT als TT positief : NTT dan STOP. als TT zwak positief / twijfelachtig met NTT negatief - > andere TT (TPHA).	1
Eerst TT als TT positief 2e TT (screening bloeddonoren)	1
Eerst TT als TT positief NTT STOP onafhankelijk van het resultaat van de NTT.	1
Eerst TT indien TT positief 2de TT en NTT gecombineerd. Indien de 2de TT en/of NTT positief is wordt nog een confirmatietest (T. pallidum IgG LIA) uitgevoerd.	1
Eerst TT indien TT positief NTT indien NTT positief STOP, indien NTT negatief dan ofwel STOP ofwel bij zwakke TT een 2de TT bij niet gekende patiënt.	1
Eerst TT indien TT positief NTT. Indien NTT positief STOP, indien NTT negatief en indien TT relatief zwak resultaat en/of kliniek twijfelachtig opstuur voor 2de TT	1
Eerst TT, indien TT positief dan NTT. Indien NTT positief, STOP. Indien NTT negatief EN 1) geen kliniek, geen doorgemaakte behandelde syfilisinfectie dan blot ter confirmatie. Blot positief STOP. Blot negatief STOP tenzij zwanger of klinisch vermoeden -> NTT herhalen gezien blot en NTT bij vroege infectie negatief nog kan zijn 2) geweten doorgemaakte behandelde infectie, dan stop	1
I.f.v. klinische context TT + NTT of eerst TT (bij asymptomatische screening) en dan + NTT zo TT pos	1
Als de test op Architect positief is, voeren we de Fujirebio test uit als tweede test. Wij voeren geen diagnose uit aangezien wij een transfusiecentrum zijn. In geval van een positieve test, worden de donoren verwittigd en doorverwezen naar hun behandelende geneesheer.	1
Ons laboratorium voert een screening uit voor totale antistoffen en als deze positief zijn wordt het staal doorgestuurd voor confirmatie via Westernblot en NTT (beperkte activiteit binnen ons laboratorium)	1
NTT en/of TT volgens aanvraag arts maar als TT pos steeds 2de test TT als bevestiging	1
NTT en/of TT volgens aanvraag behandelende arts, bij twijfelachtige resultaten worden klinische gegevens opgevraagd en in functie hiervan controlestaal of bijkomende testen (doorstuur naar extern labo) gevraagd.	1
NTT en/of TT volgens aanvraag behandelende arts. Indien één van beide testen positief: andere test uitvoeren. Bij onduidelijkheid: staal doorsturen voor 2 de TT.	1
Niet uitgevoerd in ons laboratorium. Enkel de opsporing van As wordt uitgevoerd..	1
Screening Elecsys syphilis. Als positief, uitvoeren van TPHA, VDRL en IFA Anti-Treponema pallidum IgG	1
Op onze site voeren wij enkel serologie uit in het kader van transplantatie. De aanwezigheid van antistoffen (op Cobas) zou kunnen compatibel zijn met een laattijdige fase of een recente syfilis of een doorgemaakte of behandelde syfilis. Gezien wij echter geen NTT uitvoeren, kunnen wij geen onderscheid maken tussen een recente of een oude infectie. Wij volgen niet het klassieke algoritme voor onze patiënten dat op onze hoofdzetel wordt uitgevoerd	1
NTT en/of TT volgens vraag van de behandelende geneesheer maar als alleen de TT aangevraagd wordt maar positief is voegen wij zelf een NTT toe	1
NTT en/of TT volgens geneesheer. Als TT positief --> toevoeging van NTT als niet aangevraagd. Als TT positief en NTT negatief, doorstuur voor 2 ^e TT (agglutinatie),	1
Altijd 1e TT. Als positief NTT uitvoeren en 2e TT. Uitzondering: NTT en titrage TPHA (=2e TT) als expliciet gevraagd door voorschrijver, dan worden de 3 testen uitgevoerd	1
Totaal	123

111 laboratoria hebben vermeld welke test zij als 1^e TT uitvoeren

Tabel 6.2.10. Eerst uitgevoerde TT voor syfilis-diagnose.

Firma	Kit	N labo's
Abbott	Alinity i Syphilis TP	12
	Architect Syphilis TP	17
Axis Shield	Microsyph TPHA	1
DiaSorin	LIAISON Treponema screen	24
Diesse	Chorus Syphilis screen recombinant	2
Fujirebio	Serodia-TPPA	8
Newmarket Biomedical	Newbio-PK TPH	2
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros Immunodiagnosics Products Syphilis TPA	3
Roche	Cobas syphilis	11
	Elecsys syphilis	19
Siemens	ADVIA Centaur Syph	3
	Atellica Syphilis	3
	Cellognost Syphilis H Combipack	1
	Enzygnost Syphilis	1
	Immulate 2000 Syphilis screen	3
Shenzen YHLO	Anti-TP I – Flash	1
Totaal		111

94 laboratoria hebben vermeld welke NTT zij uitvoeren: 12 hebben aangegeven dat zij de bepaling van de NTT uitbesteden.

Tabel 6.2.11. Uitgevoerde NTT voor syfilis-diagnose.

Firma	Kit	N labo's
Arlington Scientific	RPR Card Test for Syphilis	8
Becton Dickinson	Macro-Vue TM RPR Card Test	19
	VDRL Cardioliipin Ag	1
Biokit	RPR Reditest	5
bioMérieux	RPR-nosticon II	1
BioRad	RPR100	12
Chemelex	RPR Carbon	5
K Labkit	RPR Carbon 250 Tests	1
Omega Diagnostics	Immutrep RPR	2
	Immutrep Carbon Antigen	2
Plasmatec	RPR Test kit	5
Sekisui	RPR (Non-Treponemal) assay	1
Spinreact	RPR carbon	17
Tulip Diagnostics	Carbogen (RPR Card Test)	15
Totaal		94

42 laboratoria hebben vermeld welke test zij als 2^e TT uitvoeren. 37 hebben aangegeven dat zij de bepaling van de 2^e TT uitbesteden.

Tabel 6.2.12. Tweede uitgevoerde TT voor syfilis-diagnose.

Firma	Kit	N labo's
Axis Shield	Microsyph TPHA	2
BioRad	Syphilis Total Ab	1
	TPHA 200	3
DiaSorin	LIAISON Treponema screen	1
Euroimmun	WB Treponema pallidum IgG	3
Fujirebio	Inno-Lia Syphilis Score	2
	Serodia-TPPA	26
Mikrogen	RecomLine Treponema IgG	1
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros Immunodiagnosics Products Syphilis TPA	1
OxOïd	TPHA Test	1
Standard Diagnostics	Syphilis 3.0 Rapid test	1
Totaal		42

6.2.6. COMMENTAAR OP DE RESULTATEN VAN HET ONDERZOEK

Beide stalen waren afkomstig van dezelfde patiënt. Op moment van staalafname IS/18099 vertoonde de man geen symptomen maar was er wel sprake van een hoog risicocontact 1 maand voordien. De treponemale antistoffen (TT) waren reactief met relatief hoge titers/ratio's. De non-treponemale antistoffen (NTT) waren negatief. Dit is compatibel met een serologisch litteken van een voorgaande infectie. Theoretisch bedraagt de gemiddelde incubatietijd voor een syfilis infectie 21 dagen en kan dit oplopen tot 90 dagen. Een re-infectie kan dus nog niet met zekerheid uitgesloten worden.

Voor staal IS/18095 werden zowel de TT als de NTT door bijna alle labo's als positief beantwoord. De patiënt vertoonde een zweertje aan de mond. Het serologisch resultaat is compatibel met een re-infectie (gezien hij reeds een voorgeschiedenis heeft) in het primaire stadium van een syfilis infectie. Deze beide antwoorden werden als correct beschouwd. In dit opvolgstaal was zowel de NTT als TT titer duidelijk gestegen. Dit in combinatie met de symptomen geeft aan dat het niet om een laat stadium of doorgemaakte of behandelde syfilis kan gaan.

Opnieuw zijn er grote spreidingen in NTT titers zichtbaar en verwijzen wij hiervoor graag naar de commentaar in enquête 2018/2. Het wordt steeds aangeraden om follow-up stalen in dezelfde run te analyseren om een correcte interpretatie toe te laten.

Gebruikte algoritmes voor syfilis-diagnose

Voor syfilis diagnostiek worden wereldwijd verschillende algoritmes gebruikt (1,2). Er zijn 3 algoritmes te onderscheiden met elk voor- en nadelen:

- Traditioneel algoritme: er wordt gestart met een NTT, bij voorkeur kwantitatief om een prozone-effect op te pikken. Dit kan nuttig zijn in een hoge prevalentie setting omdat een groot deel al TT positief is en de NTT dan toch steeds nodig is om de activiteit van de ziekte te bepalen. Echter hebben NTT een lagere gevoeligheid dan TT, vooral bij een zeer vroege syfilis infectie. Een positieve NTT dient steeds gevolgd te worden door een TT op hetzelfde staal.
- Reverse algoritme: er wordt gestart met een TT. Dit wordt vaak gebruikt in grotere labo's, die een geautomatiseerde EIA/ELISA/CLIA gebruiken wat een hogere throughput toelaat. In een lage prevalentiesetting kan het gebruik van een TT als screeningstest wel een verhoogd aantal vals positieve resultaten geven. Wanneer er dan een discordantie is tussen de geautomatiseerde TT en de NTT (negatief resultaat), dient de initiële TT geconfirmeerd te worden met een tweede TT. Het gebruik van een tweede TT kan men laten afhangen van de symptomen van de patiënt, de voorgeschiedenis, de ratio van de eerste TT (vals positieven hebben vaak lagere ratio's).

- Gecombineerd TT met NTT algoritme: beide testen worden steeds uitgevoerd. Dit is vooral nuttig in situaties waar een zeer vroege syfilis infectie frequent voorkomt (sjanker, hoog risico populatie,...). In sommige gevallen wordt de NTT vroeger reactief dan de TT.

Uit deze rondvraag bij Belgische laboratoria blijkt dat geen enkel laboratorium het traditioneel algoritme volgt en start met een NTT. Ongeveer de helft van de labo's hanteert een volledig afgewerkt reverse algoritme. Een bijkomende 10% hanteert ook het reverse algoritme maar confirmeert niet met een 2^{de} TT in geval van discordantie tussen de 1^{ste} TT en NTT. Ongeveer 15% voert steeds een TT en NTT uit en 23% voert uit wat de arts heeft aangevraagd. Bij deze 3 laatste groepen bestaat het risico dat een positieve TT en negatieve NTT combinatie mogelijk vals positief is, zeker in een lage prevalentie setting. Dit heeft onnodige gevolgen naar behandeling en opvolging van de patiënt. **Een tweede TT in dit geval ter confirmatie is noodzakelijk.** Zwakke, vals positieve ratio's in de initiële TT kunnen ook in opvolgstalen aanwezig blijven, dus ook een opvolgstaal biedt hier geen oplossing voor.

Wanneer twee TT gebruikt worden in het algoritme is het aangewezen om te starten met de meest gevoelige en minst specifieke, bijvoorbeeld een geautomatiseerde EIA/CLIA/ELISA. Deze assays omvatten vaak één of meerdere recombinante antigenen (vb. Tp15, Tp17, Tp47) die zeer gevoelig zijn. Sommige van deze antigenen kunnen echter wel kruisreacties vertonen (3). Als tweede (confirmatie-) test worden specifiekere testen aangeraden zoals de *Treponema pallidum* Particle Agglutination test (TPPA) of de *Treponema pallidum* Haemagglutination test (TPHA) (1). Confirmeren met een sneltest of een geautomatiseerde assay met gelijkaardige of lagere specificiteit is weinig zinvol en afgeraden.

Niet alle artsen zijn steeds goed geïnformeerd over de positieve en negatieve predictieve waarde van een test en de interpretatie van discordante TT/NTT resultaten. **Het is absoluut noodzakelijk dat het laboratorium steeds een interpretatie meegeeft aan de arts.**

Van den Bossche Dorien, Klinisch Referentielaboratorium, Instituut voor Tropische Geneeskunde.

Referenties

1. Janier M et al. 2020 European guideline on the management of syphilis.
2. Soreng K et al. 2014 Serologic Testing for Syphilis: benefits and challenges of a reverse algorithm. Clin Microbiol Newsl 2014.
3. Marangoni A et al. Laboratory diagnosis of syphilis with automated immunoassays. J Clin Lab Anal. 2009; 23(1):1-6.

EINDE

© Sciensano, Brussel 2023.

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.