

WIV  
J. Wytsmanstraat, 14  
B-1050 BRUSSEL

FEDERALE OVERHEIDSDIENST, VOLKSGEZONDHEID, VEILIGHEID VAN DE  
VOEDSELKETEN EN LEEFMILIEU  
COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE

DIENST LABORATORIA VOOR KLINISCHE BIOLOGIE  
COMITES VAN DESKUNDIGEN

**JAARRAPPORT 2006**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE  
VOOR ANALYSEN KLINISCHE BIOLOGIE**

**MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE/PARASITOLOGIE**

**Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website :**

[http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external\\_quality/rapports/\\_nl/rapports\\_annee.htm](http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_nl/rapports_annee.htm)

**WIV/2006/Micro./Sero./Para. 65**

---

Dit rapport mag uitsluitend worden gereproduceerd, gepubliceerd of gedistribueerd met toestemming van het WIV.

## COMITE VAN EXPERTEN VOOR MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE

WIV (secretariaat) : 02/642.55.22 - FAX : 02/642.56.45  
(Dr. K. Vernelen) : 02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45  
(Coördinator) : e-mail : kris.vernelen@iph.fgov.be  
Dr. BODEUS Monique : 02/764.67.31 - FAX : 02/764.69.33  
: e-mail : bodeus@mblg.ucl.ac.be  
Dr. CLAEYS Geert : 09/240.36.45 – FAX : 09/240.36.59  
: e-mail : geert.claeys@ugent.be  
Dr. CROKAERT Françoise : 02/541.37.00 – FAX : 02/541.32.95  
: e-mail : fcrokaer@ulb.ac.be en nathalie.cardinal@bordet.be  
Dr. DE BEENHOUWER Hans : 053/72.42.72 – FAX : 053/72.45.88  
: e-mail : hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be  
Dr. DE GHELDRE Yves : 02/340.41.34 – FAX : 02/340.41.79  
: e-mail : yves.degheldre@chirec.be  
Dr. DEDISTE Anne : 02/535.45.42  
: e-mail : anne\_dediste@stpierre-bru.be  
Dr. DELFORGE Marie-Luce : 02/555.34.53 – FAX : 02/555.64.59  
: e-mail : mdelforg@ulb.ac.be  
Dr. HAYETTE Marie-Pierre : 043/66.24.54 – FAX : 043/66.24.40  
: e-mail : mphayette@chu.ulg.ac.be  
Dr. LAGROU Katrien : 016/34.70.98 – FAX : 016/34.79.31  
: e-mail : katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be  
Apr. LONTIE Marc : 016/31.01.72 – FAX : 016/31.01.88  
: e-mail : marc.lontie@mchlvwo.be  
Dr. LUYASU Victor : 010/43.73.30 - FAX : 010/43.71.88  
: e-mail : victor.luyasu@skynet.be  
Dr. MAGERMAN Koen : 011/30.97.40 – FAX : 011/30.97.50  
: e-mail : koen.magerman@virgajesse.be  
Dr. NAESSENS Anne : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15  
: e-mail : anne.naessens@uzbrussel.be  
Dr. PIERARD Denis : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15  
: e-mail : denis.pierard@uzbrussel.be  
Dr. VAN ESBROECK Marjan : 03/247.64.37 – FAX : 03/247.64.40  
: e-mail : mvesbroeck@itg.be  
Dr. VERHAEGEN Jan : 016/34.70.73 – FAX : 016/34.79.31  
: e-mail : jan.verhaegen@uz.kuleuven.ac.be  
Dr. WOESTYN Sophie : 056/85.58.85 – FAX : 056/85.58.86  
: e-mail : sophie.woestyn@skynet.be

## MICROBIOLOGIE

In 2006 werden er 3 enquêtes georganiseerd in het kader van de EKE in de microbiologie. 1 laboratorium (0.5 %) nam deel aan 1 enquête, 3 (1.5 %) namen deel aan 2 enquêtes en 190 (97.9 %) aan 3 enquêtes. 1 laboratorium stopte zijn activiteiten in de microbiologie in de loop van het jaar en 1 schreef zich laattijdig in. De deelname van de laboratoria bedroeg voor de opeenvolgende enquêtes 193, 192 en 191.

Men onderscheidt 118 hospitaallaboratoria, 54 privé laboratoria, 6 laboratoria in poliklinieken en 16 Luxemburgse laboratoria.

### 1. Verslag van de identificatie van de culturen

#### 1.1 Verdeling van de resultaten per monster.

9 culturen werden onder gevriesdroogde vorm verzonden.

3 culturen waren klinische stalen (stoelgang, genitale wisser en huidschilfers). De correcte en aanvaardbare identificaties werden telkens in het globaal rapport vermeld, samen met een korte omschrijving van de kenmerken van de kiemen.

Tijdens de 2<sup>e</sup> enquête werd een klinisch staal (genitale wisser) verstuurd, die een *Neisseria gonorrhoeae* bevatte. Uit de resultaten bleek dat (ondanks de nodige voorzorgen en controles) deze kiem in vele gevallen nadelige gevolgen ondervonden had van het transport, waardoor een groot aantal laboratoria er niet in geslaagd waren deze kiem aan het groeien te brengen. De resultaten van dit staal werden dan ook niet in aanmerking genomen voor de evaluatie van de laboratoria.

Stam M/6785 (*Streptococcus pneumoniae*, afkomstig uit sputum) werd rondgestuurd om aan te tonen dat zeldzame pneumokokken een intermediair resultaat hebben voor de inhibitie door optochine. Bij stam M/6785 kon men enkele resistente kolonies vaststellen binnen de inhibitiezone zodat de stam intermediair gevoelig was voor optochine. De galsolubilitestest was echter positief en volgens de kapselzwellingsstest behoorde deze pneumokok tot de kapselgroep 6.

Ter gelegenheid van de derde enquête werd een sputumstaal verstuurd dat *H. parainfluenzae* en *S. viridans* bevatte, beiden niet-pathogenen voor deze site. Het correcte antwoord dat verwacht werd was dan ook "Afwezigheid van pathogenen".

Alle antwoorden die deze vermelding (of een gelijkaardige) bevatten werden aanvaard.

Eén stam werd met didactische bedoelingen verstuurd. Zij werd dan ook niet in aanmerking genomen bij de beoordeling. Het betrof *Microsporium canis* (huidschilfers) in de 3<sup>e</sup> enquête.

Voor *Leuconostoc citreum* (hemocultuur; enquête 2006/1) en *Acinetobacter baumannii* (longaspiraats; enquête 2006/3) werd een identificatie tot op het genusniveau als afdoende beschouwd.

Tabel 1.1.1. Verdeling van de resultaten per monster. De oorsprong van elke kiem wordt tussen haakjes vermeld.

Kiem	% aanvaardbare identificaties
<i>Leuconostoc species</i> (hemocultuur)	89.1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (sputum)	99.5
<i>Candida albicans</i> + <i>Candida glabrata</i> (hemocultuur)	74.6
<i>Staphylococcus aureus</i> (etter)	100.0
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (paravertebraal abces)	99.0
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (sputum)	95.8
<i>Yersinia enterocolitica</i> (stoelgang)	97.4
<i>Enterococcus faecium</i> (hemocultuur)	96.3
<i>Acinetobacter species</i> (longaspiraats)	98.8
Afwezigheid van pathogenen (sputum)	64.9

## 1.2 Verdeling van de laboratoria volgens het aantal aanvaardbare identificaties.

Elk laboratorium diende 10 identificaties te verwezenlijken. 84 (43.3%) laboratoria hebben alle identificaties correct of aanvaardbaar geantwoord. In het totaal hebben 110 (56.7 %) laboratoria niet aanvaardbare identificaties vermeld. Onderstaande tabel geeft de verdeling van de laboratoria weer volgens het aantal niet aanvaardbare identificaties.

Tabel 1.1.2 Aantal niet aanvaardbare identificaties (zonder de "ontbrekende" antwoorden).

Aantal niet aanvaardbare identificaties	Aantal laboratoria N = 194
0	84 (43,3 %)
1	79 (40,7 %)
2	25 (12,9 %)
3	5 (2,6 %)
4	1 (0,5 %)

Het relatief hoge aantal laboratoria met 1 fout is te verklaren door het staal dat geen pathogenen bevatte: een aantal laboratoria vermeldde de aanwezige "niet-pathogenen" zonder vermelding dat deze kiemen als niet pathogeen beschouwd dienden te worden. Sommige laboratoria voerden argumenten aan waarom zij de niet-pathogenen in dit geval toch geantwoord hebben. Hierop werd verder ingegaan in het begeleidende commentaar over dit staal, dat in het globaal rapport 2006/3 verscheen.

Indien het niet-antwoorden van een evaluatiemonster zonder verklaring (laattijdige inschrijving, stoppen van de activiteiten, niet uitvoeren van een bepaald type staal in het labo) als foutief wordt beschouwd, bekomen we de volgende resultaten:

Tabel 1.1.3 Aantal niet aanvaardbare identificaties (met inbegrip van de "ontbrekende" antwoorden).

Aantal niet aanvaardbare identificaties	Aantal laboratoria N = 194
0	82 (42,3 %)
1	79 (40,7 %)
2	25 (12,9 %)
3	5 (2,6 %)
4	3 (1,5 %)

## 1.2. Evaluatie van de gevoeligheidsbepalingen

De antibiogrammen van 6 kiemen, *Pseudomonas aeruginosa* M/6437, *Staphylococcus aureus* M/6613, *Streptococcus pneumoniae* M/6697, *Streptococcus pneumoniae* M/6785, *Enterococcus faecium* M/2090 en *Acinetobacter baumannii* M/4371 werden uitgetest elk tegenover een afzonderlijke reeks antibiotica.

### 1.2.1. *Pseudomonas aeruginosa* M/6437

Dit betrof een multi-resistente kiem; daarom werd er aan de laboratoria gevraagd, welke antibiotica zij, naast de deze die opgenomen waren in het te testen panel (en die allen resistent waren), eveneens zouden testen. 127 laboratoria hebben deze vraag beantwoord en een aantal hebben de voorgestelde antibiotica ook effectief getest. Colistine (alleen of in combinatie met andere antibiotica) werd door 98 (77%) van de 127 laboratoria aangeraden.

De multiresistentie van de kiem werd door de meerderheid van de laboratoria duidelijk vastgesteld; enkel amikacine stelde een aantal van de deelnemers voor problemen; opvallend hierbij was dat de meerderheid van de gebruikers van het toestel Phoenix de resistentie tegen amikacine niet vaststelden. Onderzoek door de firma Becton Dickinson, leverde volgende gegevens op: "Bijkomend onderzoek, uitgevoerd door het «Antibiotic Resistance Monitoring and Reference Laboratory» in London, heeft aangetoond dat de MIC voor amikacin bij deze «*Pseudomonas aeruginosa*» stam 32 µg/ml bedraagt. Hierbij werd de standaard broth microdilutie methode, algemeen aanvaard als zijnde de referentiemethode, gebruikt. Volgens de richtlijnen van de CLSI, beschreven in het document M100-S16, january 2006, wordt een MIC van 32 als intermediair geïnterpreteerd.

Zoals door u aangegeven bepaalde het Phoenix systeem, bij de meeste gebruikers, een MIC voor amikacin van 16, wat ook het geval was in onze testen. Bij vergelijking van verschillende antibiogrammethoden tov van de referentiemethode is het gekend dat een foutmarge van +/- 1 verdunning kan voorkomen en ook geaccepteerd wordt. Het is dan ook zeer moeilijk om deze MIC variatie op korte termijn weg te werken.

Tijdens de validatiestudies van het Phoenix systeem tov de referentiemethode werd voor amikacin bij Gram negatieve bacteriën een «essential agreement» van 95% bekomen en een «categorical agreement» van 100%.

Onze mensen van R&D blijven dit verder monitoren."

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2006/1.

Tabel 1.2.1. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/6437 (*P.aeruginosa*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	I	R	*
Amikacine	R	188	17	38	131	2 <sup>3,4</sup>
Tobramycine	R	139	-	-	138	1 <sup>3</sup>
Piperacilline-tazobactam	R	168	-	-	167	1 <sup>3</sup>
Meropenem	R	166	-	1	165	-
Ceftazidime	R	188	-	2	186	-
Cefepime	R	169	-	-	168	1 <sup>3</sup>
Chinolones						
Ciprofloxacin	R	152	-	1	151	-
Levofloxacin	R	16	-	-	16	-
Moxifloxacin	R	2	-	-	2	-
Norfloxacin	R	9	-	-	9	-
Ofloxacin	R	15	-	-	15	-
«Chinolone» <sup>1</sup>	R	10	-	-	10	-
Colistine <sup>2</sup>	S	31	31	-	-	-

<sup>1</sup> Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

<sup>2</sup> Hoewel colistine niet op het antwoordformulier vermeld was, geven wij hier toch de resultaten ervan weer; het is het antibioticum dat door de meerderheid van de laboratoria (die deze vraag beantwoord hebben) als bijkomend te testen antibioticum vermeld werd en door 31 laboratoria (waaronder sommige van de experts) reeds getest werd.

<sup>3</sup> Eén laboratorium vermeldde dat het voor amikacine 3 verschillende resultaten bekwam met 3 verschillende methoden (Phoenix: S; Rosco: I; E-test: R) en dat het in routine het staal naar een referentiecentrum zou sturen voor de definitieve interpretatie.

<sup>4</sup> Eén laboratorium zou het staal in routine doorsturen voor bepaling van de gevoeligheid aan amikacine, tobramycine, piperacilline-tazobactam en cefepime.

### 1.2.2. *Staphylococcus aureus* M/6613

Deze stam was een CA-MRSA (community-acquired MRSA) (methicilline- en fusidinezuur-resistent). Opvallend is dat 11 laboratoria geen methicilline, oxacilline of cefoxitine getest hebben (hoewel op het antwoordformulier methicilline stond, is het perfect logisch dat laboratoria die over methoden ter bepaling van oxacilline en/of cefoxitine beschikken, één van deze beide (of beiden) testen in plaats van of samen met methicilline). Eén van de 11 laboratoria bepaalde het PBP2a via een antigenetest en concludeerde zo dat het een MRSA betrof. Eén van de andere laboratoria antwoordde "MRSA" bij de identificatie, doch deed dit zonder één van de 3 hierboven vermelde antibiotica te antwoorden, noch zonder te vermelden dat het een antigen (of andere) test uitvoerde om de aanwezigheid van een MRSA te bepalen. Een aantal laboratoria vermeldde dat zij in routine deze stam zouden doorsturen voor bepaling van *mecA* gen of van PVL-opsporing.

Het begeleidende commentaar bevatte de richtlijnen van 2006 van de CLSI voor het testen van oxacillinegevoeligheid van Stafylokken: de gevoeligheid voor oxacilline moet getest worden aan de hand van een cefoxitineschijfje van 30 µg of van een oxacillineschijfje van 1 µg op een Mueller-Hinton (MH) agar, waar geen NaCl aan toegevoegd wordt, en die gedurende 24 uur op 35°C (± 2°C) geïncubeerd wordt. Tevens werd een beschrijving gegeven van de CA-MRSA; typisch voor de CA-MRSA in Europa is de gevoeligheid voor chinolones en resistentie tegen fusidinezuur, tetracycline of kanamycine.

Deze Community Acquired Methicillin-Resistant *S. aureus* (CA-MRSA) worden vaak aangetroffen bij infecties van huid en weke delen, en zeldzamer bij osteo-artritis of letale necrotiserende pneumonieën. Deze hypervirulente stammen produceren een exotoxine, het Panton-Valentin leukocidine (PVL) dat een ernstige weefselnecrose veroorzaakt met lyse van de witte bloedcellen. Om de evolutie van de CA-MRSA infecties te kunnen volgen en de verspreiding ervan te beperken, is het aangewezen alle verdachte stammen te bevestigen. Het voorkomen bij een jonge patiënt zonder risicofactoren van een MRSA met een typisch resistentiepatroon suggereert de aanwezigheid van een PVL-positieve CA-MRSA. De bevestiging en de typering kunnen gebeuren in het Stafylokokken referentiecentrum, dat de surveillance van deze infecties in België uitvoert.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2006/1.

Tabel 1.2.2 Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/6613 (*S. aureus*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	S/I	I	I/R	R	*
Methicilline	R	28	2	-	-	-	25	1 <sup>6</sup>
Oxacilline <sup>1</sup>	R	155	26	-	1	-	127	1 <sup>4</sup>
Cefoxitine <sup>1</sup>	R	33	3+1 <sup>4</sup>	-	-	-	29	-
Erythromycine	S	191	184	-	4	-	2	1 <sup>6</sup>
Clarithromycine <sup>2</sup>	S	3	3	-	-	-	-	-
Clindamycine	S	188	184	-	-	-	2	2 <sup>6,7</sup>
Vancomycine	S	188	183 <sup>5</sup>	-	-	-	2	3 <sup>6,8,9</sup>
Gentamicine	S	174	172	-	-	-	-	2 <sup>6,10</sup>
Fusidinezuur	R	142	3	-	74	1	59	5 <sup>6,9,11,12,13</sup>
Kanamycine	S	57	45	-	6	-	3	3 <sup>9,11</sup>
Chinolones								
Ciprofloxacin	S	101	99	-	-	-	1	1 <sup>6</sup>
Levofloxacin	S	42	40	-	-	-	2	-
Mefloxacin	S	1	1	-	-	-	-	-
Moxifloxacin	S	10	10	-	-	-	-	-
Norfloxacin	S	13	13	-	-	-	-	-
Ofloxacin	S	27	27	-	-	-	-	-
"Chinolone" <sup>3</sup>	S	10	10	-	-	-	-	-

<sup>1</sup> Een aantal laboratoria bepaalde oxacilline en/of cefoxitine in plaats van of samen met methicilline.

<sup>2</sup> Een aantal laboratoria bepaalde clarithromycine in plaats van erythromycine.

<sup>3</sup> Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

<sup>4</sup> Eén laboratorium antwoordde "S" voor cefoxitine maar vermeldde in een opmerking: "beperkte gevoeligheid"; dit laboratorium vermeldde tevens diameter, verdunning en ruwe interpretatie doch geen definitieve interpretatie voor oxacilline doch merkte hierbij op de stam in routine doorgestuurd zou worden om na te gaan of het een CA-MRSA betreft.

<sup>5</sup> Eén laboratorium antwoordde "S" voor vancomycine maar vermeldde in een opmerking dat indien dit antibioticum noodzakelijk zou zijn, de MIC zou moeten bepaald worden.

<sup>6</sup> Eén laboratorium vermeldde wel diameters doch geen interpretatie voor methicilline, erythromycine, clindamycine, vancomycine, fusidinezuur en ciprofloxacin.

<sup>7</sup> Eén laboratorium vermeldde wel de met de Sirscan gemeten diameter doch geen interpretatie voor clindamycine.

<sup>8</sup> Eén laboratorium vermeldde dat een interpretatie op basis van de diskdiffusie methode niet geldig is voor vancomycine.

<sup>9</sup> Eén laboratorium zou in routine de stam doorsturen voor bepaling van gevoeligheid voor vancomycine en kanamycine; een ander laboratorium zou het doorsturen voor bepaling van gevoeligheid voor fusidinezuur en kanamycine.

- <sup>10</sup> Eén laboratorium vermeldde wel de diameter en ruwe interpretatie doch geen definitieve interpretatie voor gentamicine.
- <sup>11</sup> Eén laboratorium vermeldde wel de diameter en ruwe interpretatie doch geen definitieve interpretatie voor fusidinezuur en kanamycine.
- <sup>12</sup> Eén laboratorium vermeldde wel de verdunning doch geen definitieve interpretatie voor fusidinezuur.
- <sup>13</sup> Eén laboratorium vermeldde dat er voor fusidinezuur geen referentiediameter bestaat.

### 1.2.3. *Streptococcus pneumoniae* M/6697 en *Streptococcus pneumoniae* M/6785

Deze beide stammen werden vooral verstuurd omwille van de bijzonderheden bij de identificatie (M/6697 was afkomstig van een paravertebraal abces, M/6785 was optochine-resistent).

Desalniettemin vertoonden beiden ook resistenties tegen bepaalde antibiotica. M/6697 was resistent tegen erythromycine en tetracycline; het resistentiepatroon tegen de fluorochinolones was afhankelijk van het geteste chinolone. Door al de laboratoria werd deze stam geantwoord als gevoelig voor penicilline en derde generatie cefalosporines en resistent tegen erythromycine.

Voor tetracycline hebben we zeer wisselende resultaten bekomen afhankelijk van de gebruikte techniek. Vooral opvallend was dat vooral de gebruikers van de Roscoschijfjes het antwoord "gevoelig" bekwamen (op 44 gebruikers: 27 S, 11 I, 6 R). De firma International Medical (de verdeler van de Rosco disks in België) werd hierover gecontacteerd. Zij hebben de stam onderzocht met volgende resultaten: bepaling van de MIC-waarde met de agar dilutie methode leverde een waarde op van 4 µg/ml (intermediair resultaat volgens de CLSI breakpoints); zij hebben de diskdiffusie met de Rosco schijfjes herhaald onder de omstandigheden zoals deze door de CLSI aanbevolen worden (incubatieduur 20-24 uur, CO<sub>2</sub> atmosfeer, en aflezen van de "clear zone"), dit leverde een gemiddelde inhibitiezone op van 21 mm (range 20-22 mm) met Tetracycline (80 µg) Neo-Sensitabs, wat overeenkomt met een resultaat intermediair/resistent. Een volledig verslag van hun bevindingen (met inbegrip van de CLSI richtlijnen) werd gepubliceerd in het globaal rapport 2006/2.

Afhankelijk van het gekozen fluorochinolone bekwam men voor de stam een ander resultaat.

Tabel 1.2.3.: Resultaten van de fluorochinolones in functie van de gebruikte methode voor staal M/6697 (*S. pneumoniae*).

	Papieren schijfjes				Rosco				Vitek 2			
	Aantal	S	I	R	Aantal	S	I	R	Aantal	S	I	R
Ciprofloxacin	7	2	1	4	16	10	3	3	-	-	-	-
Levofloxacin	5	4	1	-	17	16	0	1	16	16	0	0
Ofloxacin	9	3	6	-	17	7	8	2	8	3	4	1
Moxifloxacin	10	10	-	-	18	18	-	-	23	23	0	0



Met de E-test werden in het referentielaboratorium de volgende MIC waarden afgelezen: ciprofloxacin (16 mg/L), levofloxacin (3 mg/L), ofloxacin (6 mg/L) en moxifloxacin (0.38 mg/L). Deze resultaten zijn een mooie illustratie van de activiteit van fluoroquinolones tegen *Streptococcus pneumoniae*. Ciprofloxacin en ofloxacin zijn de minst actieve preparaten, terwijl moxifloxacin het meest actieve thans beschikbare fluoroquinolone is voor de behandeling van pneumokokkeninfecties. De richtlijnen van de Société Française de Microbiologie (SFM) en de CLSI werden gepubliceerd in het globaal rapport 2006/2 en worden hierna samengevat:

De (SFM) raadt aan in routine verminderde gevoeligheid voor fluoroquinolones op te sporen met een norfloxacin-disc (5µg). Bij het vinden van een inhibitiezone van <10 mm (of een MIC van > 16 mg/L) bestaat er: "un risque élevé de sélection in vivo de mutants résistants aux fluoroquinolones et d'échec clinique". In dezelfde richtlijnen vindt men ook de criteria voor levofloxacin en moxifloxacin. De overige fluoroquinolones worden niet vermeld in dit document.

CLSI richtlijnen van 2006 vermelden criteria voor de volgende fluoroquinolones: gatifloxacin, gemifloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, ofloxacin en sparfloxacin; maar niet voor norfloxacin en ciprofloxacin. Al de fluoroquinolones horen volgens de CLSI thuis in de B categorie waarvan de definitie luidt: "Group B represents agents that may warrant primary testing but which should be reported only selectively, such as when the organism is resistant to penicillin, erythromycin and trimethoprim-sulfamethoxazole."

M/6785 was resistent tegen de fluoroquinolones. Het terugvinden van deze resistentie stelde geen grote problemen.

In het globaal rapport werd vermeld dat het voorkomen in België van dergelijke moxifloxacin resistente stammen een aansporing is voor de laboratoria om een antibiogram voor fluoroquinolones uit te voeren. Meestal zullen stammen met resistentie tegen levofloxacin wel gevoelig zijn voor moxifloxacin. Maar indien men overweegt om een ernstige levofloxacin resistente pneumokokkeninfectie te behandelen met moxifloxacin moet de activiteit van het antibioticum bevestigd worden.

Onderstaande tabellen verschenen in het globaal rapport 2006/2.

Tabel 1.2.4. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	I	R
Penicilline <sup>1</sup>	S	190	189	1	-
Erythromycine	R	187	1	8	178
Clarithromycine <sup>2</sup>	R	3	-	-	3
Tetracycline	R	150	30	27	93
Doxycycline <sup>3</sup>		25	22	-	3
Minocycline <sup>3</sup>		3	1	1	1
Cefalosporines 3 <sup>e</sup> generatie					
Cefotaxime <sup>4</sup>	S	88	88	-	-
Ceftazidime <sup>4</sup>	S	14	14	-	-
Ceftizoxime	S	5	5	-	-
Ceftriaxone <sup>4</sup>	S	55	55	-	-
Cefepime	S	2	2	-	-
«Cefalosporine» <sup>5</sup>	S	4	4	-	-
Chinolones					
Ciprofloxacin		28	12	6	10
Levofloxacin		59	54	4 <sup>7</sup>	1
Moxifloxacin		58	58	-	-
Norfloxacin		6	-	-	6
Ofloxacin		35	13	18	4
Gatifloxacin		1	1	-	-
Sparfloxacin		1	1	-	-
Oxolinezuur		1	-	-	1
«Chinolones» <sup>6</sup>		4	4	-	-

<sup>1</sup> Een groot aantal laboratoria die de gevoeligheid voor penicilline bepaalden met de diffusiemethode, gebruikten hiervoor oxacilline-schijfjes.

<sup>2</sup> Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor clarithromycine in plaats van voor erythromycine.

<sup>3</sup> Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor doxycycline of minocycline in plaats van voor tetracycline.

<sup>4</sup> Een aantal laboratoria die de gevoeligheid voor één van deze cefalosporines bepaalden met de diffusiemethode, gebruikten hiervoor oxacilline-schijfjes.

<sup>5</sup> Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte cefalosporine niet.

<sup>6</sup> Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

<sup>7</sup> Eén laboratorium antwoordde "I" voor levofloxacin hoewel het met de ATB methode een resultaat "S" bekam; gezien het resultaat "R" dat met de schijfjes bekomen werd voor norfloxacin, werd het resultaat van levofloxacin naar "I" gewijzigd.

Tabel 1.2.5. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/6785 (*S. pneumoniae*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	I	R
Penicilline <sup>1</sup>	S	184	184	-	-
Amoxicilline <sup>2</sup>	S	135	135	-	-
Ampicilline <sup>3</sup>	S	12	12	-	-
Erythromycine	S	180	177	-	3
Clarithromycine <sup>4</sup>	S	4	4	-	-
Cefalosporines 3 <sup>e</sup> generatie					
Cefotaxime <sup>5</sup>	S	37	37	-	-
Ceftazidime <sup>5</sup>	S	13	13	-	-
Ceftizoxime	S	5	5	-	-
Ceftriaxone <sup>5</sup>	S	54	54	-	-
Cefepime	S	1	1	-	-
Cefsulodine	S	1	-	-	1
"Cefalosporine" <sup>6</sup>	S	4	4	-	-
Chinolones					
Ciprofloxacin	R	29	1	-	28
Levofloxacin	R	56	3	-	53
Moxifloxacin	R	59	2	2	55
Norfloxacin	R	6	-	-	6
Ofloxacin	R	33	-	-	33
Gatifloxacin	R	1	-	-	1
Sparfloxacin	R	1	-	-	1
Oxolininezuur	R	1	-	-	1
"Chinolone" <sup>7</sup>	R	4	-	-	4

<sup>1</sup> Een groot aantal laboratoria die de gevoeligheid voor penicilline bepaalden met de diffusiemethode, gebruikten hiervoor oxacilline-schijfjes.

<sup>2</sup> Een aantal laboratoria die de gevoeligheid voor amoxicilline bepaalden met de diffusiemethode, gebruikten hiervoor oxacilline-schijfjes.

<sup>3</sup> Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor ampicilline in plaats van voor amoxicilline.

<sup>4</sup> Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor clarithromycine in plaats van voor erythromycine.

<sup>5</sup> Een aantal laboratoria die de gevoeligheid voor één van deze cefalosporines bepaalden met de diffusiemethode, gebruikten hiervoor oxacilline-schijfjes.

<sup>6</sup> Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte cefalosporine niet.

<sup>7</sup> Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

#### 1.2.4. *Enterococcus faecium* M/2090

Deze stam bevatte het "Van B" gen; de resultaten voor de glycopeptiden (vancomycine "R" en teicoplanine "S") waren dan ook de belangrijkste; het is dan ook verheugend vast te stellen dat slechts 1.6% van de laboratoria vancomycine als gevoelig geantwoord hebben (en 2% een resultaat "R" of "I" voor teicoplanine gaven).

Het resultaat "gevoelig" voor ampicilline werd voornamelijk bekomen door de gebruikers van de technieken Rosco-schijfjes en E-test. Beide firma's hebben dit probleem onderzocht. U vindt hieronder een overzicht van hun antwoorden.

De firma Rosco verstrekke volgend antwoord:

"The CLSI recommends MICs to be performed as broth dilution or agar dilution. Due to the poor stability of ampicillin in liquid media (broth), agar dilution methods are preferred for performing MICs with this antimicrobial. Our results using ampicillin agar dilution showed an MIC of 8 µg/ml against ampicillin for strain M/2090. In our test were included strains with known ampicillin MICs as Control Strains.

The normal distribution of enterococci have MIC's in the interval 0.25-2 µg/ml and therefore the tested strain has an elevated MIC, however if the breakpoints from CLSI are followed ( $\leq 8$  µg/ml susceptible/ $\geq 16$  µg/ml resistant) the strain is a borderline strain with MIC= 4-16 µg/ml  $\sim 8$  µg/ml plus/minus one dilution.

Taking into account the mentioned instability of ampicillin in solution, as well as the normal variation of MIC tests (plus/minus one dilution) we may conclude that a method indicating MIC 8 µg/ml as susceptible and 16 µg/ml as resistant, will be difficult to apply, when a borderline strain (such as M2090) is used for testing. We do not understand, why you include borderline strains like M/2090 in your sendings. If the strain is resistant, it has to be demonstrated using official (Reference) MIC tests (such as agar dilution) not using E-test or commercialized machines that give only approximate results. Misinformation may be concluded when using the interpretation result from the majority of participants on a borderline strain.

No matter if the strain is called S or R to ampicillin, MIC= 4-16 µg/ml  $\sim 8$  µg/ml plus/minus one dilution, serious enterococcal infections are not recommended to be treated with ampicillin alone. In our case being a strain isolated from blood, the treatment will be high dosage ampicillin plus gentamicin, because the strain is not HLR to gentamicin. If the clinician receives the result ampicillin R (without MIC value) it is probable, that he will not use ampicillin + gentamicin for treatment that could be unfortunate with strain M/2090 because the strain is vancomycin resistant."

De firma ABBiodisk (producent van de E-test) verstrekke volgend antwoord, wat de sterk uiteenlopende resultaten die met deze test bekomen werden, verklaart:

"Depending on which media and inoculum is used the results varies between the S and R categories. When reading Etest Ampicillin which has a bactericidal mode of action it is very important to select the endpoint at 100% inhibition. Tilting the plate against a good source of light, using transmitted light and/or using a magnifying glass will facilitate reading of hazes and microcolonies. It appears this strain is affected by the MH media brand and inoculum density which gave more or less trailing and this could explain the broad range of MIC results and varying categories. A MIC result

could vary by +/- 1 dilution at best on repeated testing which cause category changes between S and R for this particular strain.

The triplicate test result when using the CLSI reference broth microdilution technique was 8 µg/mL, i.e. susceptible which correlate with the Etest results in our laboratory. But again, on repeated testing with other brands of MH broth and other inherent technical variables, the BMD could easily be 16 µg/mL."

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2006/3.

Tabel 1.2.6. Resultaten van het antibiogram van M/2090 (*E. faecium*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	I	R	*
Ampicilline	R	184	35	5	143 <sup>3</sup>	1 <sup>4</sup>
Amoxicilline <sup>1</sup>	R	4	3		1	
Gentamicine <sup>2</sup>	S	176	137	8	11	20 <sup>5</sup>
Vancomycine	R	189	3	11	173 <sup>3</sup>	2 <sup>6</sup>
Teicoplanine	S	147	144	1	2	

<sup>1</sup> Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor amoxicilline in plaats van voor ampicilline.

<sup>2</sup> Het verwachte resultaat betreft het resultaat van "High level gentamicine" (hetgeen men dient te testen voor enterokokken); niet alle laboratoria hebben echter de gevoeligheid voor de "high level" bepaald.

<sup>3</sup> Twee laboratoria vermeldden dat gezien de resistentie deze stam in routine voor bevestiging van identificatie en/of antibiogram zou doorgestuurd worden naar een referentielaboratorium.

<sup>4</sup> Antwoord van 1 laboratorium: "Het resultaat van de gevoeligheidsbepaling voor ampicilline is R of S afhankelijk van methode; communicatie met clinicus noodzakelijk. Keuze van het AB zal zeker mee bepaald worden door de oorzaak van de bacteriemie."

<sup>5</sup> Onder "\*" hebben wij voor gentamicine volgende antwoorden samengevat:

- 1 laboratorium dat deze kiem voor dit antibiogram doorstuurt
- 1 laboratorium dat "low level resistance" antwoordde
- 2 laboratoria die geen finale resultaat antwoordden
- 3 laboratoria die vermeldden dat het uittesten van "High level gentamicine" (waarover zij niet beschikken in hun laboratorium) noodzakelijk is
- 13 laboratoria antwoordden dat synergie met penicilline (of celwand actieve antibiotica) mogelijk is indien deze laatste zelf gevoelig zijn (waarbij een aantal laboratoria vermeldden dat dit voor de huidige kiem niet het geval is voor penicilline; 1 laboratorium vermeldde dat dit voor deze kiem wel gold voor teicoplanine)

<sup>6</sup> Onder "\*" hebben wij voor vancomycine volgende antwoorden samengevat:

- 1 laboratorium dat antwoordde dat het resultaat "niet-interpreteerbaar" was maar dat men hiervoor over "vanco 5" dient te beschikken
- 1 laboratorium bekam verschillende resultaten met de schijfjesmethode ("I") en het vancoscreen milieu ("R") en noteerde als slotconclusie dat een MIC-bepaling noodzakelijk was

### 1.2.5. *Acinetobacter baumannii* M/4371

Er werd aan de laboratoria gevraagd op deze stam 5 antibiotica te testen: ampicilline, amoxicilline-clavulaanzuur, piperacilline-tazobactam, cefalosporines 3<sup>e</sup> generatie en chinolones. In het begeleidende commentaar werd vermeld dat de CLSI sinds januari 2006 een tabel voor interpretatie van de zone-diameters voor *Acinetobacter spp.* apart van *Pseudomonas aeruginosa* voorziet. Bij *Acinetobacter spp.* wordt ampicilline-sulbactam (niet verkrijgbaar in België) en trimethoprim-sulfamethoxazole vermeld. Voor amoxicilline-clavulaanzuur zijn geen criteria vastgelegd. Voor de MIC bepaling is ook een aparte tabel voor *Acinetobacter spp.* voorzien met een andere selectie van antibiotica en andere interpretatiecriteria. Voor colistine zijn er nu ook criteria: S als kleiner of gelijk aan 2 en R als groter of gelijk aan 4 mg/l.

De stam die werd rondgestuurd was matig gevoelig aan ceftazidime. De gerapporteerde MIC waarden lagen tussen 4 en 16 mg/l. De criteria van CLSI zijn: S als kleiner of gelijk aan 8 mg/l, I als gelijk aan 16 mg/l en R als groter of gelijk aan 32 mg/l. Voor ernstige infecties wordt aangeraden de MIC waarde te bepalen. Indien carbapenems een goede activiteit vertonen dan zijn ze een alternatief voor behandeling.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2006/3.

Tabel 1.2.7. Resultaten van het antibiogram van M/4371 (*A. baumannii*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal aantal labo's	S	I	I/R	R	*
Ampicilline	R	172	1	1	-	169	1 <sup>5</sup>
Amoxicilline <sup>1</sup>	R	6	-	-	-	6	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	R	177	17	28 <sup>4</sup>	-	127	5 <sup>5,6</sup>
Piperacilline-tazobactam	I/S	167	54	95	1	16	1 <sup>5</sup>
Cefalosporines 3e generatie							
Cefotaxime	R	52	4	10	-	38	-
Cefpodoxime	R	1	-	-	-	1	-
Ceftazidime	S	118	67	47	-	3	1 <sup>5</sup>
Ceftriaxone	I	19	-	13	-	6	-
Cefepime	S/I	8	2	4	-	2	-
"Cefalosporine" <sup>2</sup>		8	2	5	-	1	-
Chinolones							
Ciprofloxacin	S	132	116	13	-	3	-
Levofloxacin	S	30	30	-	-	-	-
Moxifloxacin	S	5	5	-	-	-	-
Norfloxacin	S	5	1	3	-	1	-
Ofloxacin	S	21	17	3	-	-	1 <sup>5</sup>
"Chinolones" <sup>3</sup>	S	8	6	1	-	1	-

<sup>1</sup> Een aantal laboratoria bepaalde de gevoeligheid voor amoxicilline in plaats van voor ampicilline.

<sup>2</sup> Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte cefalosporine niet.

<sup>3</sup> Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte chinolone niet.

<sup>4</sup> Eén laboratorium gaf wel het antwoord "I" maar vermeldde dat dit in routine niet geantwoord zou worden.

<sup>5</sup> Eén laboratorium vermeldde wel lading, methode en diameter voor staal M/4371, maar niet de interpretatie voor ampicilline, amoxicilline-clavulaanzuur, piperacilline-tazobactam, ceftazidime en ofloxacin.

<sup>6</sup> Dit betreft:

- het hierboven onder punt 5 vermeldde laboratorium
- 1 laboratorium dat geen finaal resultaat antwoordde

- 1 laboratorium dat vermeldde dat er geen CLSI-criteria bestaan voor amoxicilline-clavulaanzuur voor *A. baumannii*
- 1 laboratorium dat vermeldde dat amoxicilline-clavulaanzuur therapeutisch geen optie is voor *A. baumannii*
- 1 laboratorium dat vermeldde dat het resultaat afhankelijk was van de gebruikte methode: "S" met Rosco en "R" met Phoenix; in routine antwoordt dit laboratorium geen amoxicilline-clavulaanzuur voor *A. baumannii*; indien er specifiek zou naar gevraagd worden, zou het labo in dit geval "R" antwoorden

## 2. PARASITOLOGIE

Er werden in 2006 drie enquêtes voor de evaluatie van het parasitologisch onderzoek georganiseerd.

### 2.1. Enquête 1

189 laboratoria namen deel aan deze enquête.

Er werden 2 fecessuspensies in formol verstuurd: P/6231 en P/6695.

Staal P/6231 bevatte cysten van *Giardia lamblia* en van *Entamoeba histolytica*. *Giardia lamblia* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd herkend door 185 (97.9%) laboratoria. De cysten werden teruggevonden door 176 deelnemers. *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba histolytica/dispar* of *Entamoeba dispar* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd herkend door 81 (42.9%) laboratoria. De cysten werden teruggevonden door 81 deelnemers. Andere *Entamoeba* spp. werden geantwoord door 56 (29.6%) laboratoria.

Staal P/6695 bevatte geen parasieten.

164 (86.8%) laboratoria antwoordden "afwezigheid van parasieten". 25 (13.2%) rapporteerden de aanwezigheid van 1 of meer parasieten.

### 2.2. Enquête 2

185 laboratoria namen deel aan deze enquête.

Er werden 2 fecessuspensies in formol verstuurd: P/5499 en P/6393.

Staal P/5499 bevatte eieren van *Ascaris lumbricoides*.

*Ascaris lumbricoides* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd herkend door 152 (82.2%) laboratoria. De eieren werden teruggevonden door 146 deelnemers. 23 laboratoria hebben het antwoord "Afwezigheid van parasieten" gegeven. De stalen van deze laboratoria waarvan voldoende staal beschikbaar was om een analyse uit te voeren, werden door het WIV herbekeken. Hieruit is gebleken dat deze stalen *Ascaris* eieren bevatten, doch dat deze vaak atypisch waren. In het commentaar werden een aantal foto's gepubliceerd ter verduidelijking.

Staal P/6393 bevatte eieren van *Taenia* species, cysten van *Blastocystis hominis* en cysten van *Entamoeba hartmanni*.

*Taenia* species (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd herkend door 153 (82.7%) laboratoria. De eieren werden teruggevonden door 148 deelnemers. 22 deelnemers (11.9%) hebben *Taenia saginata* geantwoord. Allen vermeldden als evolutiestadium "ei".

*Blastocystis hominis* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd herkend door 51 (27.6%) laboratoria. De cysten werden teruggevonden door 40 deelnemers.

*Entamoeba hartmanni* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd herkend door 75 (40.5%) laboratoria. De cysten werden teruggevonden door 72 deelnemers. 3 deelnemers (1.6%) hebben *Entamoeba* species geantwoord. Allen vermeldden als evolutiestadium "cyste".



### 2.3. Enquête 3

190 laboratoria namen deel aan deze enquête: 190 laboratoria hebben een antwoord ingeleverd voor staal P/6609 en 189 voor staal P/6945.

Twee bloeduitstrijkjes, P/6609 en P/6945 werden rondgestuurd.

Staal P/6609 bevatte microfilaria van *Loa loa*.

*Loa loa* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd teruggevonden door 157 (82.6%) laboratoria. De microfilaria werden vermeld door 142 deelnemers.

Staal P/6945 bevatte trofozoïeten, gametocyten en schizonten van *Plasmodium vivax*.

*Plasmodium vivax* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd teruggevonden door 142 (75.1%) laboratoria. 14 laboratoria antwoordden *Plasmodium species* en 8 *Plasmodium non-falciparum*.

Voor *P. vivax* werden de trofozoïeten teruggevonden door 132 deelnemers, de schizonten door 112 laboratoria en de gametocyten door 102 laboratoria.

### 2.4. Gebruik van de Toolkit

Het aantal antwoorden via geïnformatiseerde weg (Toolkit) bedroeg respectievelijk 33%, 38% en 56% voor elk der 3 enquêtes.

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

### 3. SEROLOGIE INFECTIEUSE

In 2006 werden serologische parameters voor Syphilis, Borrelia, Toxoplasma, HBV, HCV, Mycoplasma en HIV geëvalueerd. Het aantal deelnemers varieerde afhankelijk van de geëvalueerde parameter.

#### 3.1. Syphilis

Er werd 1 gelyofiliseerd plasmamonster rondgestuurd, S/6634, waarop zowel antistoffen tegen Treponema pallidum als tegen Borrelia bepaald dienden te worden.

Dit staal bevatte anti-Treponema pallidum antistoffen.

Het staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:  
"Koorts en rash".

181 laboratoria namen deel aan deze enquête. Ze voerden 387 testen uit, met name 216 specifieke ("treponemale") testen en 171 aspecifieke ("niet-treponemale") testen. 10 (5.5%) laboratoria voerden 1 test uit, 143 (79.0%) laboratoria voerden 2 testen uit, 23 (12.7%) laboratoria 3 testen, 3 (1.7%) laboratoria 4 testen en 2 (1.1%) laboratoria 5 testen.

90% van de laboratoria die 1 test uitvoerden, gebruikten een specifieke test; van de laboratoria die meer dan 1 test uitvoerden, gebruikten 97.7% de combinatie van aspecifieke en specifieke testen, 1.7% enkel specifieke testen en 0.6% enkel aspecifieke testen.

De meeste gebruikte kits waren Serodia TPPA (Fujirebio) (46.4%), Murex Syfacard-R (Abbott) (19.9%) RPR Carbon (Reaction Spinreact) (16.0%), Trepo-Spot IF (bioMérieux) (11.6%), RPR nosticon (bioMérieux) (10.5%) en TPHA (Lameris) (9.9%).

84.4% van de laboratoria die minstens 1 specifieke test uitvoerden bekwamen een positief resultaat met alle gebruikte kits, 3.9% een borderline resultaat en 8.4% een negatief resultaat. De overblijvende laboratoria bekwamen verschillende resultaten met de verschillende kits die ze gebruikten of gaven geen kwalitatieve weergave van hun resultaat weer.

15 van de 20 negatieve resultaten werden bekomen door de gebruikers van de kit Cellognost Syphilis H Combipack (alle gebruikers van deze kit). De firma Dade Behring werd hiervan op de hoogte gebracht en heeft het probleem onderzocht.

Hun conclusie was:

"The sample from a late stage Syphilis patient included in the Belgian proficiency testing program for Syphilis antibodies has been tested in 3 different lots of Cellognost Syphilis in the Technical Support lab at Dade Behring Marburg. In the screening version at the 1:51 sample dilution the result has been judged as reactive, while in the quantitative version which starts at 1:80, the results were negative. Obviously, the content of specific antibodies is relatively low and is hardly picked up by the Cellognost Syphilis. According to our view, the negative result of that specific sample from late stage syphilis (at least in the quantitative version at 1:80) is no indicator of a general weakness of the TPHA reagents in general or of Cellognost syphilis in special. The test does not claim a 100% sensitivity in all stages."

83.9% van de laboratoria die minstens 1 aspecifieke test uitvoerden bekwamen een positief resultaat met alle gebruikte kits, 4.2% een borderline resultaat en 10.1% een

negatief resultaat. De overblijvende laboratoria bekwamen verschillende resultaten met de verschillende kits die ze gebruikten of gaven geen kwalitatieve weergave van hun resultaat weer.

156 (86.2%) laboratoria gaven de (correcte) interpretatie "Antilichamen detecteerbaar (De diagnose van actieve Syfilis moet worden uitgesloten op basis van klinische gegevens, anamnese, klinisch en paraklinisch onderzoek en serologisch profiel van follow-up sera)". Enkele verkozen een variant hierop of gaven een eigen interpretatie (waarvan de meerderheid aanvaardbaar was). Zeven (3.9%) laboratoria antwoordden "Geen antilichamen detecteerbaar". Eén laboratorium beantwoordde de interpretatie niet.

In het commentaar op de resultaten van de enquête werd benadrukt **dat VDRL enkel niet-specifieke antistoffen opspoot en dat het bijgevolg het noodzakelijk is hieraan een techniek te associëren die specifieke antistoffen opspoot**. Tevens werd de echte en valse positiviteit van de VDRL bij andere pathologieën besproken. **Er werd eveneens benadrukt dat het uitvoeren van enkel een ELISA IgM niet volstaat als eerste lijstechniek. Ze moet tenminste vergezeld zijn van een ELISA IgG.**

Er werd verder vermeld dat de Western blot en Inno-Lia technieken, gezien hun grote gevoeligheid en specificiteit, beschouwd worden als referentie- en confirmatietechnieken.

Tot slot werden enkele algoritmes aangeboden die toelaten bij volwassenen de resultaten van de syfilisserologie in afwezigheid van antibiotica-therapie te interpreteren; en werd de invloed van deze therapie op de serologie uiteen gezet.

### 3.2. Borrelia

1 Er werd 1 gelyofiliseerd plasmamonster rondgestuurd, S/6634, waarop zowel antistoffen tegen Syfilis als tegen Borrelia bepaald dienden te worden.

Dit staal was bevatte geen anti-Borrelia antistoffen.

Het staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:  
"Koorts en rash".

142 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 219 testen uit. 79 (55.6%) laboratoria voerden 1 test uit, 52 (36.6%) laboratoria voerden 2 testen uit, 9 (6.3%) laboratoria 3 testen, 1 (0.7%) laboratorium 4 testen en 1 (0.7%) laboratorium 5 testen.

Laboratoria die 1 test gebruikten, bepaalden de totale antistoffen. 85.7% van de laboratoria die meer dan 1 test gebruikten, bepaalden IgG en IgM antistoffen; 14.3% bepaalden naast IgG en IgM ook de totale antistoffen.

93.2% van de laboratoria die de totale antistoffen opspoorden, bepaalden de algemene antistoffen en 6.8% de anti-C6 antistoffen. Van de bepalingen van IgG en IgM waren er 89.2% niet-blot bepalingen en 10.8% blotbepalingen.

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- totale antistoffen: VIDAS Lyme (bioMérieux) (88.6%)
- IgG: Liaison Borrelia IgG (Diasorin) (34.8%), Borrelia burgdorferi IgG Elisa (Euroimmun) (22.7%) en Enzygnost Borreliosis (Dade Behring) (16.7%)
- IgM: Liaison Borrelia IgM (Diasorin) (35.4%), Borrelia burgdorferi IgM Elisa (Euroimmun) (23.1%) en Enzygnost Borreliosis (Dade Behring) (16.9%)

**Voor de bepaling van de algemene totale (IgG+M) antistoffen**, was het opvallend dat, op 2 laboratoria na die enkel het kwantitatieve resultaat antwoordden maar geen kwalitatieve interpretatie, **alle laboratoria een positief of borderline resultaat bekwamen**. Gezien uit de resultaten van de 'individuele' screeningstesten (IgM en/of IgG) en vooral uit de blottesten (zowel de voorafgaandelijk door sommige van de experten als deze ter gelegenheid van de enquête uitgevoerde), gebleken is dat het staal negatief was op anti-Borrelia AS, kunnen we besluiten dat het hier **kruisreacties met de anti-Syfilis AS betreft**; de betrokken firma's bioMérieux en Virion/Serion werden hierover gecontacteerd.

Voor de Rapid Scope Borrelia burgdorferi IgG/IgM kit, verstrekke de firma Virion/Serion volgende antwoord:

"With other methods the sample was negative. However we declare the Rapid Test as screening method and therefore it is not such astonishing that the sample is positive with this test. **We really do not want to miss a patient and cross reactions with Treponema pallidum are well known for Borrelia diagnostic.**"

De firma zal in de toekomst in de bijsluiter de kruisreactie met Treponema pallidum expliciet vermelden.

Voor de Vidas Lyme IgG and IgM kit vermeldde de firma bioMérieux dat zij in de bijsluiter de gebruikers aanraden elk positief resultaat met deze kit te controleren door het uitvoeren van een syphilis-opsporing:

"Positive results in the VIDAS Lyme IgG and IgM assay must be interpreted with caution. **Cross-reactivity is frequently seen in patients with syphilis when detecting infections to B. burgdorferi. Clinical symptoms, epidemiological information, and other laboratory test results (such as RPR, VDRL, or TPHA) must all be considered in addition to VIDAS Lyme IgG and IgM assay results.**"

De antiC6 antistoffen werden door 5 van de 6 laboratoria die deze test uitvoerden, als negatief geantwoord.

Voor IgG bekwamen 94.8% van de deelnemers (die deze test uitvoerden) een negatief resultaat met de niet-blot testen; voor de blottesten waren 7 op de 8 resultaten negatief

Voor IgM bekwamen 96.6% van de deelnemers (die de test uitvoerden) een negatief resultaat zowel met de niet-blot bepalingen als met de blot bepalingen.

De interpretaties werden uiteraard beïnvloed door de resultaten van de uitgevoerde testen. De laboratoria die de (correcte) negatieve resultaten bekwamen met één of meerdere testen, antwoordden "Afwezigheid van antistoffen". De meerderheid van de laboratoria die een positief resultaat bekwamen (in hoofdzaak betreft dit laboratoria die IgG+M bepaalden), antwoordden "Aanwezigheid van antistoffen" (37.3%). Nochtans hebben negen laboratoria die een positief resultaat bekwamen voor IgG+M "Afwezigheid van antistoffen " geantwoord; in de opmerking raadden de meesten een controle aan (via Western Blot of op een follow-up staal) of vermeldden dat de positiviteit te verklaren was door de aanwezige anti-Syfilis antistoffen. In totaal gaven 51.4% van de laboratoria de interpretatie "Afwezigheid van antistoffen". Tien laboratoria (7.0%) wensten zich niet uit te spreken over de af-of aanwezigheid van antistoffen doch verwezen in de opmerking naar de noodzaak van controle. Nog anderen (3.5%) antwoordden "twijfelachtig" en verwezen eveneens naar de noodzaak aan controle. Eén laboratorium (0.7%) gaf geen interpretatie.

### 3.3. Toxoplasma

Er was 1 gelyofiliseerd plasmamonster, S/4173, waarop antistoffen tegen Toxoplasma bepaald dienden te worden.

Dit staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:  
"Een jonge vrouw klaagt van vermoeidheid en vertoont klieren."

Het verwachte resultaat was: "Serologie negatief voor Toxoplasma"

178 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 374 testen uit. 166 (93.3%) laboratoria voerden 2 testen uit, 7 (3.9%) laboratoria 3 testen, 4 (2.2%) laboratoria 4 testen en 1 (0.6%) laboratorium 5 testen.

Alle laboratoria bepaalden met minstens 1 techniek de IgM. Op 1 laboratorium na bepaalden ze ook de IgG met minstens 1 techniek. Vijf laboratoria bepaalden de IgA.

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- IgG: AxSym Toxo IgG (Abbott) (37.9%), VIDAS Toxo IgG II (bioMérieux) (18.7%), Access Toxo IgG (Beckman) (15.4%), Liaison Toxo IgG (DiaSorin) (10.4%) en Advia Centaur Toxo IgG (Bayer) (7.1%)
- IgM: AxSym Toxo IgM (Abbott) (36.6%), VIDAS Toxo IgM (bioMérieux) (20.4%), Access Toxo IgM (Beckman) (15.1%), Liaison Toxo IgM (DiaSorin) (10.2%) en Advia Centaur Toxo IgM (Bayer) (7.0%)
- IgA: slechts 5 laboratoria hebben de IgA bepaald; een overzicht van de meest gebruikte kits is dan ook weinig zinvol

Zowel IgG, IgM als IgA werden door alle deelnemers negatief bevonden.

Alle laboratoria gaven de interpretatie "Negatieve serologie voor Toxoplasma".

### 3.4. HBV

Er werden 2 stalen rondgestuurd: één gelyofiliseerd staal S/4661 en één "klaar-voor-gebruik" staal S/4670.

Op beide stalen dienden de testen voor Hepatitis B en C uitgevoerd worden.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

" Patiënten met geelzucht"

De verwachte resultaten en interpretaties waren:

S/4661:

HBsAg: positief

HBsAs: negatief

HBcAs: positief

HBeAg: negatief

HBeAs: positief

Interpretatie HBV: Infectie met het hepatitis B virus

HCV: negatief

S/4670:

HBsAg: negatief

HBsAs: negatief

HBcAs: negatief

HBeAg: negatief

HBeAs: negatief

Interpretatie HBV: Negatieve serologie

HCV: positief

In het totaal stuurden 188 laboratoria hun antwoordformulier terug.

Op staal S/4661 werden in totaal 807 testen uitgevoerd:

- HBs Ag: 190 testen
- anti-HBs As: 186 testen
- anti-HBc As: 181 testen
- HBe Ag: 115 testen
- anti-HBe As: 111 testen
- HBs Ag confirmatie: 15 testen
- anti-HBc IgM: 9 testen

Op staal S/4670 werden in totaal 762 testen uitgevoerd:

- HBs Ag: 190 testen
- anti-HBs As: 187 testen
- anti-HBc As: 181 testen
- HBe Ag: 97 testen
- anti-HBe As: 93 testen
- HBs Ag confirmatie: 8 testen
- anti-HBc IgM: 6 testen

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- HBsAg: AxSym HBsAg (Abbott) (28.9% beide stalen), Access HBsAg (Beckman) (14.2% beide stalen), Architect HBsAg (Abbott) (13.7% beide stalen), VIDAS HBsAg (bioMérieux) (8.9% beide stalen) en Vitros ECi HBsAg (Ortho Diagnostics) (7.9% beide stalen)
- HBsAg confirmatie: AxSym HBsAg confirmatory (Abbott) (26.7% en 50%) en Vitros ECi HBsAg confirmatory (Ortho Diagnostics) (26.7% en 25%)
- Anti HBs As: AxSym AUSAB (Abbott) (29.6% en 29.4%), Architect AUSAB (Abbott) (12.4% en 12.3%), VIDAS anti-HBs Total (bioMérieux) (10.8% en 11.2%), Access HBsAb (Beckman) (10.2% beide stalen) en Vitros ECi anti-HBs (Ortho Diagnostics) (8.6% beide stalen)
- Anti HBc totale As: AxSym CORE (Abbott) (32.0% beide stalen), Access HBc Ab (Beckman) (13.8% beide stalen), Architect CORE (Abbott) (12.2% beide stalen) en VIDAS anti-HBc Total II (bioMérieux) (10.5% beide stalen)
- Anti HBc IgM: AxSym CORE-M (Abbott) (33.3% beide stalen), VIDAS HBc IgM II (bioMérieux) (22.2% en 33.3%) en Vitros ECi anti-HBc IgM (Ortho Diagnostics) (22.2% en 33.3%)
- HBeAg: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (49.6% en 44.3%), AxSym HBe 2.0 (Abbott) (22.6% en 25.7%) en Architect HBeAg (Abbott) (9.5% en 9.3%)
- Anti HBe As: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (44.1% en 39.8%), AxSym anti-HBe (Abbott) (27.0% en 26.9%) en Architect anti-HBe (Abbott) (9.9% en 10.7%)

Voor S/4661 kunnen de resultaten als volgt samengevat worden: 99.5% van de deelnemers vonden HBsAg positief en 98.9% anti-HBs As negatief, 98.9% vonden de totale anti-HBc As positief, 88.9% vonden HBc IgM negatief, allen vonden HBeAg negatief en anti-HBe As positief.

90.4% interpreteerden het staal als afkomstig van een patiënt met HBV-infectie.

Voor S/4670 kunnen de resultaten als volgt samengevat worden: 68.6% vonden HBsAg negatief, 99.5% vonden anti-HBs As negatief, 97.2% vonden de totale anti-HBc As negatief, allen vonden HBeAg negatief en anti-HBe As negatief.

De vals niet-negatieve resultaten werden bekomen met volgende kits:

- voor HBs Ag: 48 AxSYM HBsAg, 2 Liaison HBsAg, 1 Access HBsAg, 1 Modular HBsAg, 1 Architect HBsAg, 1 Centaur HBsAg, 1 VIDAS HBsAg, 1 Prism HBsAg, 1 Immulite HBs Ag, 1 Elecsys HBsAg en 1 ETI-MAK-4
- voor HBc As: 2 AxSYM CORE, 1 Modular anti-HBc, 1 ETI-AB-COREK-2 en 1 Centaur HBc Total

72.8% interpreteerden het staal als een negatieve serologie. ***De overgrote meerderheid van de laboratoria die een vals positief resultaat bekomen hadden, hebben in hun interpretatie de noodzaak van een confirmatie aangegeven (en/of zelfs vermeld dat het wellicht om een vals positief resultaat ging).***



Gezien een groot aantal van de vals positieve resultaten zich voordeed met kits van de firma Abbott werd deze gecontacteerd met de vraag dit staal te onderzoeken. Hun onderzoek leverde de volgende resultaten op:

- HBsAg
  - o Vals positief resultaat werd bevestigd met AxSYM HBsAg
  - o De reactiviteit werd niet bevestigd met de confirmatietest (AxSYM HBsAG Confirmatory)
  - o De bijsluiter vermeldt dat reactieve stalen eerst in duplo hertest moeten worden en bij herhaling van de reactiviteit geconfirmeerd; pas als deze confirmatietest positief is, kan van een reactief staal gesproken worden; stalen waarvan de confirmatietest negatief is, dienen beschouwd te worden als stalen die specifieke reacties vertonen
- HBcAc
  - o Vals positief resultaat werd niet bevestigd met AxSYM CORE
  - o De bijsluiter vermeldt dat reactieve stalen eerst in duplo hertest moeten worden; zijn deze beide testen negatief, dan moet het staal als negatief beschouwd worden; is één van beide positief, dan dient het staal als reactief beschouwd worden; de resultaten moeten steeds gecorreleerd worden met de symptomen en met de andere serologische parameters; vals reactieve resultaten kunnen voorkomen met elke diagnostische test

In het begeleidende commentaar, opgesteld door de leden van het comité van experts, werd dieper ingegaan op **het routinegewijs in duplo hertesten van alle positieve HBsAg. Gesteld werd dat een dergelijke handelwijze enkel aan te bevelen is in geval van afwezigheid van anti-HBc As of van zwak positieve HBsAg ongeacht de anti-HBc status.**

### 3.5. HCV

Op dezelfde stalen waarop de HBV serologie bepaald diende te worden, moest eveneens de HCV serologie uitgevoerd worden (zie onder 3.4 voor de gegevens van deze stalen).

In het totaal stuurden 177 laboratoria hun antwoordformulier terug.

Meerdere laboratoria voerden meer dan één test uit per staal; op staal S/4670 werden meer testen uitgevoerd dan op staal S/4661. Op staal S/4661 voerden 170 (96%) laboratoria 1 test uit en 7 (4%) 2 testen. Op staal S/4670 voerden 160 (90.4%) laboratoria 1 test uit, 16 (9.0%) 2 testen en 1 (0.6%) 3 testen.

Alle laboratoria gebruikten minstens 1 ELISA voor beide stalen; voor staal S/4661 gebruikte 1 laboratorium een LIA (Line Immunoassay), voor staal S/4670 gebruikten 5 laboratoria deze techniek. Op dit laatste staal voerde één laboratorium eveneens een blottechniek uit.

De meest gebruikte kits waren AxSym HCV 3.0 (Abbott) (34.8% en 32.8%), Access HCV Ab Plus (Biorad) (15.2% en 14.3%), Architect HCV (Abbott) (14.1% en 13.3%), Centaur HCV (Bayer) (9.8% en 9.2%), Vitros ECi anti-HCV (Ortho Diagnostics) (8.1% en 7.7 %) HCV version 3.0 Elisa (Ortho Diagnostics) (7.6% en 7.2%).

Voor S/4666 gaven 99.4% der laboratoria het antwoord "negatief". Enkel het laboratorium dat een vals positief resultaat bekam, zou dit staal in routine doorsturen naar een referentiecentrum.

Voor S/4668 gaven **98.3% der laboratoria het antwoord "positief". 55.4% van de laboratoria zouden dit staal in routine doorsturen naar een referentiecentrum; tot de laboratoria die het niet zouden doorsturen, behoren laboratoria die zelf confirmatietesten uitvoeren en laboratoria die vermelden dat bij hoge kwantitatieve resultaten van de screeningstesten een confirmatie niet nodig is.**

### 3.6. Mycoplasma

Er werd 1 gelyofiliseerd plasmamonster opgestuurd, S/1195.

Het monster was vergezeld van de volgende klinische informatie:  
"Patiënt met respiratoire infectie."

Het staal bevatte geen anti-Mycoplasma antistoffen. De verwachte klinische interpretatie was dan ook: "Afwezigheid van antistoffen."

163 laboratoria namen deel aan deze enquête. Een aantal voerden meer dan 1 bepaling uit: 52 (31.9%) laboratoria voerden 1 test uit, 104 (63.8%) laboratoria voerden 2 testen uit en 7 (4.3%) laboratoria 3 testen. De meest uiteenlopende combinaties van testen werden hierbij gebruikt. Een overzicht hiervan wordt gegeven in volgende tabel.

Tabel 3.6.1. Aantal deelnemers verdeeld per parameter voor Mycoplasma (staal S/1195, enquête 2006/3).

Parameter	Aantal labo's
IgG+M	37 (22.7%)
IgM	15 (9.2%)
IgG en IgM	60 (36.8%)
(IgG+M) en IgM	36 (22.1%)
IgM en IgA	3 (1.8%)
(IgG+M) en (IgM+A)	2 (1.2%)
IgG en IgA	1 (0.6%)
(IgG+M) en IgA	1 (0.6%)
2 x (IgG+M)	1 (0.6%)
IgG en IgM en IgA	3 (1.8%)
(IgG+M) en IgG en IgM	2 (1.2%)
(IgG+M) en IgG en IgA	1 (0.6%)
IgG en 2 x IgM	1 (0.6%)

De meest gebruikte reagentia waren:

- Mycoplasma IgG+M: Serodia-Myco II (Fujirebio) (93.8%).
- Mycoplasma IgG: Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa (Euroimmun) (26.5%), SeroMP IgG (Diasorin) (14.7%) en Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa (Virion/Serion) (13.2%).
- Mycoplasma IgM: Immunocard Mycoplasma (Meridian) (33.9%), Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa (Euroimmun) (14.9%), Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa (Virion/Serion) (9.9%) en SeroMP IgM (Diasorin) (9.1%)
- Mycoplasma IgA: Mycoplasma pneumoniae IgA Elisa (Medac) (77.8%).

78 laboratoria (97.5%) bekwamen een negatief resultaat voor IgG+M; 1 bekwam een borderline resultaat en 1 een borderline en een negatief resultaat met 2 verschillende kits.

65 laboratoria (95.6%) bekwamen een negatief resultaat voor IgG; 3 bekwamen een borderline resultaat.

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor IgM.

7 laboratoria (77.8%) bekwamen een negatief resultaat voor IgA; 2 bekwamen een positief resultaat.

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor IgM+A.

150 (92%) laboratoria kozen voor de interpretatie "Afwezigheid van antistoffen"; 8 (4.9%) laboratoria kozen voor "Afwezigheid van IgM antistoffen". Sommige van deze

laatststen (die een borderline resultaat voor IgG bekomen hadden) raadden een controle van de IgG aan (of verklaarden dat het resultaat van de IgG niet significant was). Eén laboratorium antwoordde dat "Op 1 monster met complement bindingsreactie geen uitspraak mogelijk is over recente infectie" .

4 laboratoria (2.4%) antwoordden "Aanwezigheid van antistoffen", waaronder 1 laboratorium dat voor alle bepalingen een negatief resultaat bekomen had en 2 laboratoria met positieve *IgA resultaten terwijl er voor het gebruik van deze parameter nog niet voldoende argumenten voorhanden zijn.*

### 3.7. HIV

Twee vloeibare plasmamonsters werden rondgestuurd, S/6979 en S/6530.

Monster S/6979 was positief en monster S/6530 was negatief voor anti-HIV antistoffen.

Aan deze enquête namen 186 laboratoria deel.

Op staal S/6530 voerden de laboratoria 206 screeningstesten uit: 166 (89.2%) laboratoria voerden 1 test uit en 20 (10.8%) laboratoria 2 testen. Daarnaast vermelden 12 laboratoria het resultaat van de Ag p24 test die zij bekwamen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit (die anti-HIV As en Ag p24 tegelijkertijd bepaalt).

Op staal S/6979 voerden de laboratoria 214 screeningstesten uit: 158 (84.9%) laboratoria voerden 1 test uit en 28 (15.1 %) laboratoria 2 testen. Daarnaast antwoordden 14 laboratoria het resultaat bekomen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit voor Ag p24 op het staal en bepaalden 5 laboratoria Ag p24 met de VIDAS HIV p24 II kit; tevens hebben 2 laboratoria een confirmatietest uitgevoerd (met de GENELABS HIV 2.2 BLOT en de Inno-LIA HIV Confirmation) op dit staal.

De meest gebruikte reagentia waren AxSYM HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (20.5% en 21.3% voor de 2 stalen), VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) (11.0% en 14.2% voor de 2 stalen), AxSYM HIV-1/2gO (Abbott) (9.6% en 10.0% voor de 2 stalen), en Architect HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (8.2% en 8.5% voor de 2 stalen).

Resultaat van de screeningstesten voor S/6530: het staal werd negatief bevonden door 180 (96.8%) laboratoria. 2 (1.1%) laboratoria bekwamen een borderline resultaat en 1 (0.5%) een positief; 3 laboratoria (1.6%) bekwamen een verschillend resultaat (borderline en negatief) met 2 verschillende technieken.

De Ag p24 bepaling was negatief bij alle laboratoria die deze test antwoordden.

181 laboratoria zouden het staal in routine niet doorsturen naar een referentielaboratorium; enkel laboratoria die een positief of borderline antwoord inleverden, zouden het staal doorsturen.

Resultaat van de screeningstesten voor S/6979: alle laboratoria vonden het staal positief.

***De Ag p24 bepalingen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit, gaven het antwoord "ND" "Not Determined" weer; navraag bij de firma bioMérieux leerde dat dit antwoord niet gelijk staat aan een negatief resultaat, maar dat het antwoord "ND" betekent dat de sterke reactie voor de As de bepaling van het Ag p24 kan belemmeren en een adequate conclusie over Ag p24 onmogelijk is en dit dus met een andere techniek bepaald dient te worden.***

De resultaten van de VIDAS HIV p24 II waren allen positief met een waarde >400 pg/ml.

De resultaten van de GENELABS HIV 2.2 BLOT en de Inno-LIA HIV Confirmation waren beide positief.

183 laboratoria zouden het staal in routine doorsturen naar een referentielaboratorium; de 3 laboratoria die dit niet zouden doen, zijn laboratoria die zelf de confirmatietesten uitgevoerd hebben of vermelden zelf ARL te zijn.