

**WETENSCHAPPELIJK INSTITUUT VOLKSGEZONDHEID
KWALITEIT VAN MEDISCHE LABORATORIA**

**COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE
COMITE VAN DESKUNDIGEN**

JAARRAPPORT 2011

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE VOOR
ANALYSEN KLINISCHE BIOLOGIE**

MICRO/SERO/PARA

WIV-2011/Micro/Sero/Para/88

Dienst Kwaliteit van medische laboratoria
J. Wytsmanstraat, 14
1050 Brussel | België

www.wiv-isp.be

COMITE VAN EXPERTEN VOOR MICRO/SERO/PARA

WIV (secretariaat)	:	02/642.55.22 – FAX : 02/642.56.45
(Dr. VERNELEN K.)	:	02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45
(Coördinator)	:	e-mail : kris.vernelen@wiv-isp.be
Apr. BOEL An	:	053/72.47.85 - FAX : 053/72.45.88
	:	e-mail : an.boel@olvz-aalst.be
Dr. CLAEYS Geert	:	09/332.36.45 – FAX : 09/332.49.85
	:	e-mail : geert.claeys@ugent.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. LAGROU Katrien	:	016/34.70.98 – FAX : 016/34.79.31
	:	e-mail : katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be
Dr. MAGERMAN Koen	:	011/30.97.40 – FAX : 011/30.97.50
	:	e-mail : koen.magerman@jessazh.be
Dr. NAESSENS Anne	:	02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15
	:	e-mail : anne.naessens@uzbrussel.be
Dr. PADALKO Elizaveta	:	09/332.21.08 – FAX : 09/332.49.85
	:	e-mail : elizaveta.padalko@uzgent.be
Dr. REYNDERS Marijke	:	050/45.39.27 – FAX : 050/45.26.19
	:	e-mail : marijke.reynders@azsintjan.be
Dr. VAN ESBROECK Marjan	:	03/247.64.37 – FAX : 03/247.64.40
	:	e-mail : mvesbroeck@itg.be
Dr. VERROKEN Alexia	:	02/764.67.32 – FAX : 02/764.69.33
	:	e-mail : alexia.verroken@uclouvain.be
Dr. WOESTYN Sophie	:	056/85.58.85 – FAX : 056/85.58.86
	:	e-mail : sophie.woestyn@skynet.be

Expertenvergadering : 13/09/2012

Toestemming verspreiding rapport : Kris Vernelen - 19/09/2012



Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_nl/rapports_annee.htm

I.MICROBIOLOGIE

In 2011 werden er 3 enquêtes georganiseerd in het kader van de EKE in de microbiologie. 171 laboratoria namen aan minstens één enquête deel. Eén laboratorium (0.6 %) nam deel aan 1 enquête, vier (2.3 %) namen deel aan 2 enquêtes en 166 (97.1 %) aan 3 enquêtes. Vier laboratoria stopten hun activiteiten. De deelname van de laboratoria bedroeg voor de opeenvolgende enquêtes 171, 170 en 166.

Men onderscheidt 110 hospitaallaboratoria, 48 privé laboratoria en 4 laboratoria in poliklinieken; er namen eveneens 9 Luxemburgse laboratoria deel aan de EKE.

1.1. Verlag van de identificatie van de culturen.

1.1.1. Verdeling van de resultaten per monster.

Er werden 13 stalen verstuurd: 8 onder gevriesdroogde vorm en 5 gesimuleerde stalen. De correcte en aanvaardbare identificaties werden telkens in het globaal rapport vermeld, samen met een korte omschrijving van de kenmerken van de kiemen.

Voor *Capnocytophaga sputigena* (hemocultuur; enquête 2011/1) en *Shigella sonnei* (stoelgang; enquête 2011/3) werden 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>Capnocytophaga sputigena</i> (hemocultuur)	81.3
<i>Staphylococcus lugdunensis</i> (hemocultuur)	95.3
<i>Acinetobacter baumannii</i> (abdominale wonde)	97.7
Afwezigheid van pathogenen (keelwisser)	60.4
<i>Enterobacter gergoviae</i> (urine)	95.9
<i>Enterococcus faecium</i> (hemocultuur)	92.9
<i>Escherichia coli</i> (urine)	100.0
<i>Listeria monocytogenes</i> (hemocultuur)	94.7
<i>Neisseria meningitidis</i> (urine)	82.4
<i>Clostridium difficile</i> , toxine + (stoelgang)	92.1
<i>Clostridium difficile</i> , toxine - (stoelgang)	89.1
Afwezigheid van <i>Clostridium difficile</i> (<i>Clostridium non-difficile</i>) (stoelgang)	96.3
<i>Shigella sonnei</i> (stoelgang)	99.4

De relatief lagere score voor “afwezigheid van pathogenen” voor de keelwisser uit de 1^e enquête ligt in het feit dat dit staal een *S. pneumoniae* bevatte (niet-pathogeen voor de gegeven site); een niet onaanzienlijk aantal laboratoria heeft deze *S. pneumoniae* echter toch geantwoord.

1.1.2. Verdeling van de laboratoria volgens het aantal aanvaardbare identificaties.

Elk laboratorium diende 13 identificaties te verwezenlijken. 56 (32.7%) laboratoria hebben alle identificaties correct of aanvaardbaar geantwoord. In het totaal hebben 115 (67.3 %) 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 = 171)	Verdeling naargelang type labo (ziekenhuis, polykliniek, privé, Luxemburg)
0	56 (32.7%)	47 + 1 + 7 + 1
1	64 (37.4%)	40 + 0 + 21 + 3
2	28 (16.4%)	15 + 3 + 7 + 3
3	12 (7.0%)	4 + 0 + 7 + 1
4	8 (4.7%)	3 + 0 + 4 + 1
5	2 (1.2%)	0 + 0 + 2 + 0
8	1 (0.6%)	1 + 0 + 0 + 0

Voor de drie labo's met de meeste fouten stellen we vast:

- labo 1 (5 fouten): 3 onnauwkeurigheden op speciesniveau, 1 moeilijkheid bij interpretatie van "niet-pathogenen" en 1 incorrect antwoord op genusniveau
- labo 2 (5 fouten): 2 onnauwkeurigheden op speciesniveau, 1 moeilijkheid bij interpretatie van "niet-pathogenen" en 3 incorrecte antwoorden op genusniveau
- labo 3 (8 fouten): 4 onnauwkeurigheden op speciesniveau, 2 moeilijkheden bij interpretatie van "(niet)-pathogenen" en 2 incorrecte antwoorden op genusniveau

Indien het niet-antwoorden van een evaluatiemonster zonder verklaring (laattijdige inschrijving, stoppen van de activiteiten, uitbesteding van een identificatie) 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 = 171)	Verdeling naargelang type labo (ziekenhuis, polykliniek, privé, Luxemburg)
0	56 (32.7%)	47 + 1 + 7 + 1
1	63 (36.8%)	40 + 0 + 20 + 3
2	28 (16.4%)	15 + 3 + 7 + 3
3	12 (7.0%)	4 + 0 + 7 + 1
4	8 (4.7%)	3 + 0 + 4 + 1
5	2 (1.2%)	0 + 0 + 2 + 0
6	1 (0.6%)	0 + 0 + 1 + 0
8	1 (0.6%)	1 + 0 + 0 + 0

1.2. Evaluatie van de gevoeligheidsbepalingen

De gevoeligheid van 5 kiemen, *Staphylococcus lugdunensis* M/10426, *Acinetobacter baumannii* M/10639, *Enterococcus faecium* M/10848, *Escherichia coli* M/11025 en *Shigella sonnei* M/11022 werden uitgetest elk tegenover een afzonderlijke reeks antibiotica.

1.2.1. *Staphylococcus lugdunensis* M/10426

Het commentaar op de enquête vermeldde dat *S. lugdunensis* **gevoelig is voor de meest antibiotica**, zonder onderscheid tussen de verschillende klassen. Maar dat waar in 1990 minder dan 4% van de isolaten resistent waren tegen penicilline G, in de loop van de laatste tien jaar resistenties van 12 tot 27% beschreven zijn.

Resistentie tegen methicilline is zelden beschreven, wat ertoe geleid heeft dat de **CLSI de breakpoints van de diskdiffusietest voor oxacilline in 2005 gewijzigd heeft om ze gelijk te stellen met deze van *S. aureus*, en in 2006 om het testen van oxacilline te vervangen door cefoxitine.**

Voor *S. lugdunensis* is een MIC-waarde voor oxacilline ≥ 4 $\mu\text{g/mL}$ goed gecorreleerd met de aanwezigheid van het *mecA* gen en het *pbp2a*.

Onderstaande tabel 1.2.1 toont de huidige interpretatiecriteria.

Tabel 1.2.1 Interpretatiecriteria voor *S. lugdunensis*

		EUCAST[6]				CLSI [7]			
		MIC (mg/L)		Diameter (mm)		MIC (mg/L)		Diameter (mm)	
		S	R	S	R	S	R	S	R
Oxacilline 1 μg	<i>S.lugd.</i>	-	>2	-	-	≤ 2	≥ 4	-	-
	CNS	-	>0.25	-	-	≤ 0.25	≥ 0.5	-	-
Cefoxitine screen	<i>S.lugd.</i>	-	>4	≥ 22	<22	≤ 4	≥ 8	≥ 22	≤ 21
	CNS	-	>0.25*	$\geq 25^*$	<25*	-	-	≥ 25	≤ 24

*Voor andere CNS dan *S. lugdunensis* geeft de MIC-waarde van cefoxitine een minder goede voorspelling van de aanwezigheid van het *mecA* gen.

De verstuurde kiem stelde vooral problemen met betrekking tot penicilline en oxacilline-cefoxitine, zoals ook blijkt uit het grote aantal opmerkingen bij tabel 1.2.2. (die eveneens in het globaal rapport 2011/1 gepubliceerd werd).

We moeten opmerken dat de gebruikers van de schijfjes (papier of Rosco) en van de Phoenix slechts weinig problemen ondervonden bij de interpretatie van de resultaten maar dat de gebruikers van Vitek2 en Vitek2 compact daarentegen frequenter een foutief antwoord gaven (R in plaats van S voor penicilline). **Voor MIC-waarden ≤ 0.12 mg/mL of inhibitiediameters ≥ 29 mm is het aangeraden om de productie van een β -lactamase op te sporen (CLSI 2011. Supplément M100-21).**

Tabel 1.2.2. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Penicilline		155	87 ¹	-	66 ²	2 ³
Oxacilline	S	150	124 ⁴	-	26 ⁵	-
Methicilline	S	8	7	-	1	-
Cefoxitine	S	128	111 ⁶	-	17 ⁷	-
Gentamicine	S	153	153	-	-	-
Vancomycine	S	161	158	-	2	1 ⁸
Chinolone						
Ciprofloxacine	S	50	50	-	-	-
Levofloxacine	S	77	76	-	1	-
Moxifloxacine	S	32	31	-	1	-
Ofloxacine	S	9	9	-	-	-
Chinolone ⁹	S	14	14	-	-	-

¹ Eén laboratorium gaf hierbij een opmerking: "Discordantie tussen schijfjes (S) en Vitek 2 (R); β -lactamase negatief. Conclusie: S

² Eén laboratorium vermeldde de aanwezigheid van een heterogene populatie.

³ Eén laboratorium gaf hierbij een opmerking: "Discordantie Rosco schijfje (R) Vitek (S); cefinasetest voor betalactamase is negatief. In praktijk doorsturen naar ref.lab voor bepaling met E-test."

Eén laboratorium antwoordde wel het resultaat van de MIC-bepaling met Vitek 2 compact (0.25 mg/L) maar gaf geen interpretatie

⁴ Tien laboratoria gaven hierbij een opmerking:

- Wij noteren een totaal tegengesteld resultaat m.b.t. cefoxitine met Vitek (R) en Rosco (S). Resultaat op Vitek in duplo uitgevoerd. *S. lugdunensis* is normaal een vrij gevoelige bacterie. In de praktijk controleren wij steeds discordanties op Vitek (cefoxitine en oxacilline niet zelfde resultaat) met tabletten. Ter info: een PBP2a sneltest was negatief. Naar de arts zouden wij een OXA-S resultaat doorgeven.

- cfr manueel ABG (cefoxitine S)

- discordantie tussen disk (S) en Vitek 2 (R). β -lactamase negatief

- 1^e antibiogram op Vitek 2 compact geeft een resultaat R (MIC ≥ 4) en cefoxitine met BioRad disks een resultaat S (\varnothing 30 mm.); 2^e en 3^e antibiogram op Vitek 2 compact geven een resultaat S (MIC 2) en cefoxitine met BioRad disks een resultaat S (\varnothing 30 mm.); \rightarrow fout op Vitek? Deze Oxa R kan niet bevestigd worden met een andere kolonie

- Discordantie cefoxitine met diffusietest (S), cefoxitinescreen op Vitek 2 en oxacilline op Vitek 2 (R): \rightarrow doorstuur van de stam voor PCR-bepaling voor mec A. Overigens, PBP2a agglutinatie niet interpreteerbaar (controle +). Stam wordt als oxacilline S geantwoord, gezien de cefoxitinezone van 35 mm

- Discordanties op Vitek oxa: R; cefoxitine: S; chinolones: S; manuele methode Rosco: geen discordanties: oxa: S, cefoxitine: S, chinolones: S. Confirmatie AB is wenselijk.

- Antibiogram wordt in routine doorgestuurd naar referentielabo

- Commentaar van het Osiris expertsysteem: *S. aureus* en *S. lugdunensis* waarvoor de diameter van cefoxitine ≥ 22 mm is, moeten als oxacilline S geantwoord worden.

- Vitek 2 compact wordt gecontroleerd door diffusietest. Dit resultaat wordt doorgegeven aan de clinicus.

- oxacilline-cefoxitine discordantie tussen resultaat Vitek 2 (R) en Roscoschijfje cefoxitine (S). Volgens Rosco handleiding moet enkel cefoxitine getest worden: \rightarrow in routine zullen we dus S doorgeven

⁵ Vier laboratoria gaven hierbij een opmerking:

- Stam door te sturen naar referentielaboratorium wegens discordante resultaten voor oxacilline en cefoxitine bekomen met Vitek 2 compact (R) en Rosco agar diffusie (S)

- Cefoxitinescreen (MIC 6): negatief; oxacilline MIC ≥ 4 ; PBP2'a negatief. Volgens richtlijnen CLSI/2008 moeten deze stammen als oxacilline R geantwoord worden: "omwille van uitzonderlijk voorkomen van resistentiemechanismen, andere dan mecA, worden isolaten die negatief zijn voor PBP2'a, maar voor wie oxa ≥ 4 gerapporteerd als R. Deze isolaten kunnen gevoelig testen voor cefoxitine, diskdiffusie." Daarnaast, omwille van kliniek, zeker spelen naar behandeling toe en rapporteren als "MRSE".

- Test Vitek cefoxitine screen negatief; oxacilline: MIC = 1 = S: \rightarrow finale resultaat R want cefoxitine R

- heterogene populatie

⁶ Negen laboratoria gaven hierbij een opmerking:

- Wij noteren een totaal tegengesteld resultaat m.b.t. cefoxitine met Vitek (R) en Rosco (S). Resultaat op Vitek in duplo uitgevoerd. *S. lugdunensis* is normaal een vrij gevoelige

bacterie. In de praktijk controleren wij steeds discordanties op Vitek (cefoxitine en oxa niet zelfde resultaat) met tabletten. Ter info: een PBP2a sneltest was negatief. Naar de arts zouden wij een OXA-S resultaat doorgeven.

- discordantie tussen disk (S) en Vitek 2 (R). β -lactamase negatief
- 1^e antibiogram op Vitek 2 compact geeft een resultaat R (MIC ≥ 4) en cefoxitine met BioRad disks een resultaat S (\varnothing 30 mm.); 2^e en 3^e antibiogram op Vitek 2 compact geven een resultaat S (MIC 2) en cefoxitine met BioRad disks een resultaat S (\varnothing 30 mm.); →fout op Vitek? Deze Oxa R kan niet bevestigd worden met een andere kolonie
- Discordantie cefoxitine met diffusietest (S), cefoxitinescreen op Vitek 2 en oxacilline op Vitek 2 (R): →doorstuur van de stam voor PCR-bepaling voor mec A. Overigens, PBP2a agglutinatie niet interpreteerbaar (controle +). Stam wordt als oxacilline S geantwoord, gezien de cefoxitinezone van 35 mm
- Discordanties op Vitek oxa: R; cefoxitine: S; chinolones: S; manuele methode Rosco: geen discordanties: oxa: S, cefoxitine: S, chinolones: S. Confirmatie AB is wenselijk.
- oxacilline-cefoxitine discordantie tussen resultaat Vitek 2 (R) en Roscoschijfje cefoxitine (S). Volgens Rosco handleiding moet enkel cefoxitine getest worden: →in routine zullen we dus S doorgeven
- Antibiogram wordt in routine doorgestuurd naar referentielabo
- Vitek cefoxitine screen test positief: moeilijke interpretatie; te controleren door opsporen van mecA gen
- Vitek 2 compact wordt gecontroleerd door diffusietest. Dit resultaat wordt doorgegeven aan de clinicus.

⁷ Twee laboratoria gaven hierbij een opmerking:

- Stam door te sturen naar referentielaboratorium wegens discordante resultaten voor oxacilline en cefoxitine bekomen met Vitek 2 compact (R) en Rosco agar diffusie (S)
- Cefoxitinescreen (MIC 6): negatief; oxacilline MIC ≥ 4 ; PBP2'a negatief. Volgens richtlijnen CLSI/2008 moeten deze stammen als oxacilline R geantwoord worden: "omwille van uitzonderlijk voorkomen van resistentiemechanismen, andere dan mecA, worden isolaten die negatief zijn voor PBP2'a, maar voor wie oxa ≥ 4 gerapporteerd als R. Deze isolaten kunnen gevoelig testen voor cefoxitine, diskdiffusie." Daarnaast, omwille van kliniek, zeker spelen naar behandeling toe en rapporteren als "MRSE".

⁸ Eén laboratorium vermeldt dat de MIC-bepaling noodzakelijk is

⁹ Een aantal laboratoria vermelden de naam van het gebruikte chinolone niet

1.2.2. *Acinetobacter baumannii* M/10639

Stam M/10639 was een *Acinetobacter baumannii* die **resistent was tegen alle antibiotica, met inbegrip van de carbapenems en met uitzondering van colistine**. Deze stam produceerde een **verworven oxacillinase** (β -lactamase van klasse D van Ambler) **met de eigenschappen van een carbapenemase (OXA-23) dat bijna uitsluitend teruggevonden wordt bij *A. baumannii***. De stam bevatte daarenboven **eveneens een resistentiegen *bla*_{PER-1} dat codeert voor een ESBL van het type PER-1** (klasse A van Ambler) dat eveneens soms teruggevonden wordt bij *A. baumannii* en bij *Pseudomonas aeruginosa*.

Het commentaar op de enquête bevatte een **uitgebreide bespreking van de resistenties, resistentie-mechanismen, en verspreiding van de resistentie bij *Acinetobacter baumannii*** (cfr. globaal rapport 2011/1).

Met betrekking tot de resultaten op de enquête stelde het commentaar dat de **interpretatie van de resultaten** voor meropenem en de andere geteste antibiotica (met uitzondering van amikacine) **geen problemen stelde**. Voor de **aminoglycosiden** was het **resistentiemechanisme** van een **beperkt niveau** (waarschijnlijk overexpressie via efflux) met een MIC van 32 mg/L voor amikacine via microdilutie (ofwel I volgens de aanbevelingen van de CLSI (M100-S21) en R volgens deze van EUCAST). De stam vertoonde daarenboven een beperkte gevoeligheid voor gentamicine; MIC 2-4 mg/L). Wat betreft andere niet-geteste antibiotica, was de stam nog **gevoelig voor colistine** (MIC: 0.25 mg/L) en **tigecycline** (MIC: 0.5-1 mg/L). Als deze 2 antibiotica *in vitro* actief zijn, zijn ze enkel nuttig voor de behandeling van gecompliceerde infecties met *A. baumannii*, op voorwaarde dat ze **in combinatie met een tweede middel toegediend worden** (rifampicine, carbapenem, aminoglycoside).

De **meerderheid van de deelnemers** herkende het multiresistente karakter van de stam en zou ze naar **een referentiecentrum doorsturen** (hetzij om epidemiologische redenen, hetzij voor confirmatie van het resistentiemechanisme). Het is echter verontrustend vast te stellen dat 25% van de deelnemers een *Acinetobacter* met een dergelijk multiresistent profiel niet zou doorsturen, noch voor confirmatie, noch voor bepaling van het referentiemechanisme. Het zou interessant zijn te onderzoeken of de reden van het niet-doorsturen door deze laboratoria te wijten is aan het niet kennen van het belang van deze stammen zowel op therapeutisch vlak als op gebied van ziekenhuishygiëne of eventueel omwille van andere redenen (bvb. economische).

Tenslotte lijkt het nuttig nogmaals te herhalen dat de **fenotypische testen die de aanwezigheid van een synergie tussen imipenem of meropenem en EDTA (of dipicolinezuur) opsporen niet geschikt zijn om de aanwezigheid van oxacillinasen die carbapenems hydrolyseren bij *A. baumannii* te onderzoeken**. Het is eerder het **resistentieprofiel tegen carbapenems en de multiresistentie** die moet doen denken aan de aanwezigheid van een resistentiemechanisme waarvan de **bevestiging het gebruik van moleculaire testen** (PCR-sequencing) vereist en die uitgevoerd kunnen worden in een referentielaboratorium.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globale rapport 2011/1.

Tabel 1.2.3. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Piperacilline-tazobactam	R	160	-	-	160	-
Ceftazidime	R	171	-	-	171	-
Cefepime	R	155	-	-	155	-
Meropenem	R	152	-	-	152	-
Amikacine	I	164	79	30	54 ¹	1 ²
Colistine	S	111	100	1	4	6 ³
Ciprofloxacin	R	168	1	-	167	-
Levofloxacin	R	100	-	-	100	-

- ¹ Discordant AB voor amikacine: AB op Vitek 2 compact R; AB met papieren schijfjes Biorad S (op Vitek 2 compact gentamicine en tobramycine S (MIC≤1); met schijfjes gentamicine en tobramycine S (Ø 16 mm. en 17 mm.):→stam moet doorgestuurd worden voor bevestiging van het AB).
- ² Eén labo vermeldt wel de diameter die het bekwam met papieren schijfjes (8 mm.) maar geeft hiervoor geen interpretatie.
- ³ Eén labo vermeldt dat een MIC-bepaling noodzakelijk is. Vijf andere laboratoria laten de interpretatie open (2 onder hen vermelden dat er bij CLSI geen interpretatiecriteria voor *Acinetobacter* bestaan).

1.2.3. *Enterococcus faecium* M/10848

Deze stam was een *Enterococcus faecium* die resistent was tegen vancomycine, maar gevoelig voor teicoplanine: een vancomycine resistente enterokok (VRE), drager van het *van B* gen.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2011/2.

Tabel 1.2.4.: Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Ampicilline	S	165	162	-	2	1 ¹
Gentamicine	S	158	142	6 ²	5 ³	5 ⁴
Vancomycine	R	165	1	6	154	4 ⁵
Teicoplanine	S	133	129	-	2 ⁶	2 ⁷

¹ Eén labo vermeldt dat MIC-bepaling noodzakelijk is.

² Twee van deze laboratoria hebben de "low level" schijfjes gebruikt; 2 Vitek-2 gebruikers hebben een ruw resultaat "S" gewijzigd naar een finaal "I".

³ Vier van deze laboratoria hebben de "low level" schijfjes gebruikt.

⁴ Eén labo vermeldt dat MIC-bepaling noodzakelijk is. Eén labo vermeldt dat de "high level sensitivity" voor de aminoglycosiden bepaald moet worden (welke zij doorsturen). Eén labo vermeldt "low level resistentie: Van B: synergie is mogelijk met β -lactams en teicoplanine maar niet met vancomycine". Twee laboratoria laten het finale antwoord open (één antwoordt een diameter van 25 mm. voor de klassieke Neosensitabs schijfjes, afgelezen met Sirscan; het tweede antwoordt voor Vitek 2 compact: high level en "S" voor ruw en expert antibiogram).

⁵ Drie laboratoria vermelden dat MIC-bepaling noodzakelijk is. Eén labo laat het finale antwoord open (diameter met papieren schijfjes = 12 mm. en ruw resultaat = "R").

⁶ Eén labo antwoordt teicoplanine als resistent in afwachting van bevestiging van het Van A of Van B gen. Het andere vermeldt "Van B like, bij klinische behandeling met teicoplanine bekomt men geen goede resultaten".

⁷ Twee laboratoria vermelden dat MIC-bepaling noodzakelijk is.

1.2.4. *Escherichia coli* M/11025

Deze kiem werd verstuurd omwille van zijn resistentie tegen nitrofurantoïne en de chinolones, maar gevoeligheid voor de meeste andere antibiotica.

Hoewel het **werkingsmechanisme en de resistentiemechanismen** van bacteriën tegen **fluorochinolones specifiek** zijn en niet verbonden met deze van andere antibioticaklassen, is **co-resistentie tegen verschillende antibioticaklassen** (waaronder de penicillines en de cefalosporines, cotrimoxazole, de tetracyclines en soms ook de aminoglycosiden) **vaak geassocieerd aan resistentie tegen chinolones**. Dit kan enerzijds verklaard worden door herhaalde blootstelling van patiënten aan meerdere antibioticakuren en anderzijds door de associatie binnen éénzelfde bacterie van verschillende resistentiegenen die gecolocaliseerd zijn op gemeenschappelijke genetische structuren (integrons) en overgebracht worden via multipele mobiele elementen (transposons, plasmiden,...).

Het werkingsmechanisme en de resistentiemechanismen werden uitvoerig besproken in het globaal rapport van de enquête.

Vele studies maken melding van een **wereldwijde progressieve toename van de resistentie tegen chinolones bij *Escherichia coli*** gedurende de twee laatste decennia. Zo is in België het percentage invasieve chinolone-resistente *E. coli* stammen (geïsoleerd uit positieve hemoculturen) gestegen van 8.9% in 2001 tot 20% in 2009. Het verhoogde resistentieniveau tegen chinolones (20%) dat momenteel bij *E. coli* vastgesteld wordt zowel in de huisartsgeneeskunde als in hospitaalomgeving is een **contra-indicatie voor het empirisch gebruik van deze antibioticaklasse in de 1^e lijn**, in het bijzonder bij patiënten die recent behandeld werden met chinolones (cf. Aanbevelingen van de Belgische Sanford gids, Editie 2010/2011).

Onderstaande tabel 1.2.5. geeft de antibiotica weer die voor enterobacteriaceae uitgetest moeten worden met de aanbevolen kritische concentraties volgens EUCAST in Europa en CLSI in de Verenigde Staten.

Norfloxacin zou **enkel voor urinaire isolaten** getest mogen worden want dit antibioticum wordt enkel gebruikt in de behandeling van onverwikkelde urineweginfecties. De keuze tussen **ciprofloxacin** en **levofloxacin** zou gebaseerd moeten worden op lokale overwegingen (prijs van de behandeling, neveneffecten); het is **niet nodig deze twee moleculen te testen** want hun intrinsieke activiteit is gelijkaardig op enterobacteriaceae en er is meestal kruisresistentie. Het is niet nodig om in routine de activiteit van **moxifloxacin** tegen enterobacteriaceae te testen want het gebruik van dit antibioticum is **hoofdzakelijk beperkt tot de behandeling van community acquired pneumonieën bij patiënten die allergisch zijn aan penicilline**. Moxifloxacin biedt ten andere geen enkel voordeel in antibacteriële werking tegen Gram negatieve bacteriën en is duidelijk duurder dan de andere fluorochinolones.

Tabel 1.2.5. Drempelwaarden en kritische concentraties van chinolones voor Enterobacteriaceae

Chinolone	EUCAST (2011)	CLSI (2011)
Norfloxacin	$S \leq 0.5 / R > 1 (\geq 2)$	$S \leq 4 / R \geq 16$
Ofloxacin	$S \leq 0.5 / R > 1 (\geq 2)$	$S \leq 2 / R \geq 8$
Ciprofloxacin	$S \leq 0.5 / R > 1 (\geq 2)$	$S \leq 1 / R \geq 4$
Levofloxacin	$S \leq 1 / R > 2 (\geq 4)$	$S \leq 2 / R \geq 8$
Moxifloxacin	$S \leq 0.5 / R > 1 (\geq 2)$	- -

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2011/2.

Tabel 1.2.6. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/11025 (*Escherichia coli*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	*
Ampicilline	S	164	157	4	3	-
Amoxicilline-clavulaanzuur	S	169	167	1	1	-
Co-trimoxazole	S	168	168	-	-	-
Cefuroxime	S	165	157	5	2 ¹	1 ²
Nitrofurantoïne	R	167	10	17	140	-
Chinolone						
Ciprofloxacin	R	124	1	-	123	-
Levofloxacin	R	14	-	-	14	-
Norfloxacin	R	40	-	-	40	-
Ofloxacin	R	9	-	-	9	-
Nalidixinezuur	R	3	-	-	3	-
Chinolone ³	R	9	1	-	8	-

¹ Deze beide laboratoria vermelden het testen van cefuroxime axetil.

² Eén laboratorium antwoordt: "S voor parenterale cefuroxime en I voor orale cefuroxime".

³ Een aantal laboratoria vermeldde de naam van het gebruikte fluorochinolone niet.

1.2.5. *Shigella sonnei* M/11022

De bijzonderheid van deze stam was dat ze ampicilline-gevoelig was maar resistent tegen trimethoprim-sulfamethoxazole en de chinolones.

De laboratoria bekwamen uitstekende resultaten voor de antibiogrammen.

Het commentaar op de enquête ging vooral nader in op de **problemen met het vaststellen van de gevoeligheid voor de aminopenicillines**. De stam was ook gevoelig voor ampicilline en amoxicilline. Door meer dan 14% van de laboratoria werd de stam echter als resistent gerapporteerd. Verdere analyse van de resultaten toonde aan dat gebruikers van diffusietechnieken met papieren schijfjes of Rosco Neosensitabs en gebruikers van Phoenix correcte resultaten voor deze aminopenicillines bekwamen. **Drie en twintig van de 84 (27%) Vitek gebruikers rapporteerden echter een foutieve resistentie.**

De firma bioMérieux heeft de stam onderzocht en kwam tot volgende conclusie:

“We duplicated the customer issue.

We reproduced the customer's variability of results with MIC variability probably due to the growth (weak) of the strain in the PC well. So we observed some false resistances for ampicillin.

Indeed, we can see a very weak growth on strain in the PC well. This observation explains the variability of MIC results (>,<) which leads to some false resistances for ampicillin.

These data and organism have been forwarded to R&D. This complaint is now closed at the global level.”

Tevens werden enkele epidemiologische data opgenomen in het commentaar. Het jaarverslag van het Nationaal Referentielaboratorium voor *Salmonella* en *Shigella* geeft aan dat er in 2010, 357 *Shigella* stammen geanalyseerd werden met de volgende verdeling over de 4 species: *S. sonnei* (248), *S. flexneri* (94), *S. boydii* (12) en *S. dysenteriae* (3). In België was *S. sonnei* dus verantwoordelijk voor 69% van de infecties die door het centrum bevestigd werden.

Het Nationaal Referentielaboratorium bewaakt ook de **evolutie van de gevoeligheid voor antibiotica** bij de ingestuurde isolaten. In 2010 werden 85 isolaten van *S. sonnei* geanalyseerd. De resistentiepercentages waren: ampicilline (10.6%), cefotaxime (2.6%), **ciprofloxacin (24.6%)**, tetracycline (77.6%), chlooramfenicol (2.4%) gentamicine (1.2%), azithromycine (28.2%) en co-trimoxazol (85.9%). CLSI breekpuntconcentraties werden voor de interpretatie gebruikt, behalve voor azithromycine waarvoor geen CLSI richtlijnen bestaan.

Vele **standaardwerken blijven fluorochinolones aanraden** voor de empirische therapie, maar de **toenemende resistentie zal ons waarschijnlijk tot een aanpassing van deze richtlijnen nopen**. Azithromycine in een dosis van 500 mg/d gedurende drie dagen is een te overwegen alternatief. Fluorochinoloneresistentie in *Shigella* is in tegenstelling met *Salmonella Typhi* waarschijnlijk een minder groot therapeutische probleem omdat de infectie beperkt blijft tot een invasie van de darmepitheelcellen zonder bacteriemie.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2011/3.

Tabel 1.2.7.: Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/11297 (*Shigella sonnei*).

Antibioticum	<i>Verwachte resultaat</i>	<i>Totaal</i>	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	S	159	135	1	23
Amoxicilline ¹	S	4	3	1	-
Co-trimoxazole	R	159	2	-	157
Ceftriaxone	S	92	89	-	3
Cefotaxime ²	S	30	30	-	-
Ceftazidime ³	S	8	8	-	-
Chinolones					
Nalidixinezuur	R	6	-	-	6
Ciprofloxacin	R	129	-	3	126
Levofloxacin	R	22	-	3	19
Norfloxacin	R	13	-	-	13
Ofloxacin	R	4	1	-	3
Chinolone ⁴	R	6	-	-	6

¹ Een aantal laboratoria hebben de gevoeligheid voor amoxicilline in plaats van voor ampicilline getest.

² Een aantal laboratoria hebben de gevoeligheid voor cefotaxime in plaats van voor ceftriaxone getest.

³ Een aantal laboratoria hebben de gevoeligheid voor ceftazidime in plaats van voor ceftriaxone getest.

⁴ Een aantal laboratoria vermelden de naam van het gebruikte chinolone niet.

II. PARASITOLOGIE

Er werden in 2011 drie enquêtes voor de evaluatie van het parasitologisch onderzoek georganiseerd.

2.1. Enquête 1

Er werd 1 bloeduitstrijkje (P/10324) verstuurd. Daarnaast werden de parasieten uit een ander uitstrijkje (P/10813) onder vorm van foto's op de website voorgesteld. 172 laboratoria namen deel aan deze enquête.

Staal P/10324 bevatte trofozoïeten en gametocyten van *Plasmodium falciparum*.

Plasmodium falciparum (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd geantwoord door 136 (79.1%) laboratoria. De trofozoïeten werden teruggevonden door 131 (96.3%) en de gametocyten door 69 (50.7%) onder hen.

35 (20.3%) laboratoria vermeldden de aanwezigheid van Plasmodia, andere dan *Plasmodium falciparum*.

In het commentaar op de enquête werd het **belang van het kunnen onderscheiden van *P. falciparum* en de andere species** nogmaals benadrukt. Als 'major error' wordt beschouwd het missen van een *P. falciparum*, het verkeerdelijk antwoorden van een *P. falciparum* en het zich niet uitspreken over de al dan niet aanwezigheid van een *P. falciparum* (antwoorden van *Plasmodium* species). De reden daarvoor is de therapeutische aanpak die verschilt bij een infectie met *P. falciparum* zowel naar de keuze van producten als naar dringendheid toe.

De foto's van staal P/10813 toonden microfilaria van *Loa loa* en *Mansonella perstans*.

Loa loa (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd geantwoord door 163 (94.8%) laboratoria en *Mansonella perstans* door 94 (54.7%) laboratoria. De microfilaria werden geantwoord door respectievelijk 157/163 (96.3%) en 91/94 (96.8%) onder hen.

Het commentaar op de enquête ging nader in op de morfologie van beide parasieten, de symptomatologie van de infecties die ze veroorzaken en de behandeling. Tevens werd vermeld dat de aanwezigheid van een co-infectie implicaties kan hebben op de behandeling. **Niet alleen de aanwezigheid van microfilariae is dus belangrijk maar ook de identificatie van de verschillende soorten en de microfilaremie.**

2.2. Enquête 2

Er werden 2 fecessuspensies in formol verstuurd: P/10973 en P/10974.

163 laboratoria namen deel aan deze enquête (163 gaven een antwoord voor P/10973 en 162 voor P/10974).

Staal P/10973 bevatte oöcysten van *Cryptosporidium* species

Cryptosporidium species (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd geantwoord door 145 (89.0%) laboratoria. De oöcysten werden teruggevonden door 126 (86.9%) onder hen.

Het commentaar op de enquête beschreef de taxonomie, levenscyclus, transmissie, symptomen en behandeling van *Cryptosporidium parvum*.

De **diagnose** kan gesteld worden met **microscopie en antigeendetectie. PCR is gevoeliger** en laat **identificatie tot op het niveau van de species** toe maar is veel **minder ingeburgerd** in de routinediagnostiek.

De oöcysten hebben een diameter van 4-6 µm. Door hun kleine afmetingen kunnen ze makkelijk gemist worden en verward met gistcellen. Ze kleuren echter niet met jodine. Permanente kleuringen (trichroom, Fe-hematoxyline) kleuren de oöcysten niet goed aan maar bij grote concentraties kunnen ze wel gedetecteerd worden. De oöcysten kleuren met auramine maar confirmatie met een zuurvaste kleuring of immunologische test is nodig. Een eenvoudig alternatief voor de screening is de **negatieve kleuring van Heine**. Gefixeerde stalen kunnen met gemodificeerde zuurvaste kleuringen gekleurd worden waarbij vooral een correcte ontkleuring belangrijk is. De specificiteit van microscopische methoden is goed in handen van ervaren personeel en hangt af van de kwaliteit van het preparaat, de densiteit van de parasiet, de mate waarin de oöcysten kleuren en van de tijd die aan het bekijken van het preparaat gespendeerd wordt. Artefacten kunnen een probleem vormen. Voor laboratoria die niet vertrouwd zijn met de methode is het nuttig resultaten van patiënten te vergelijken met een positieve controle.

De **antigeendetectie gebeurt met EIA of met individuele immunochromatografische (snel)testen**. Deze laatste bestaan voor de detectie van *Cryptosporidium* alleen of in combinatie met *Giardia* en eventueel *E. histolytica*. De specificiteit van al deze testen is zeer behoorlijk. De gevoeligheid varieert per studie en is beter voor EIA's dan voor de sneltesten. Laboratoria met voldoende aanvragen testen dus beter in batch met een EIA. De antigeendetectie is even goed voor *C. hominis* als voor *C. parvum*. Er zijn aanwijzingen dat de minder courante *Cryptosporidium* spp. minder goed gedetecteerd worden.

Staal P/10974 bevatte oöcysten van *Cyclospora cayetanensis*

Cyclospora cayetanensis (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd geantwoord door 150 (92.0%) laboratoria. De oöcysten werden teruggevonden door 140 (93.3%) onder hen.

Het commentaar op de enquête beschreef de taxonomie, levenscyclus, transmissie, symptomen en behandeling van *Cyclospora cayetanensis*.

De **diagnose** wordt gesteld door **detectie in de stoelgang van de perfect ronde oöcysten**, 8-10 µm in diameter, met morula-achtige inclusies die sterk lichtbrekend zijn, en een duidelijke en gladde wand wat hen doet opvallen en het opsporen vergemakkelijkt. **Concentratietechnieken zijn onontbeerlijk** om ook minder ernstige infecties met voldoende hoge gevoeligheid op te sporen. In verse preparaten met lugol nemen de oöcysten de lugol meestal niet op. De oöcysten **kleuren variabel zuurvast** (sommige oöcysten nemen de zuurvaste kleuring niet op) wat de gevoeligheid van dit onderzoek niet

ten goede komt. Hun zuurvaste eigenschap is van belang wanneer men zuurvaste kleuringen gebruikt voor de opsporing van *Cryptosporidium*, waarmee *Cyclospora* kan verward worden wanneer de vier sporozoïeten van *Cryptosporidium* niet goed te zien zijn in de oöcysten. Hetzelfde geldt wanneer men immunofluorescentie gebruikt voor het opsporen van *Cryptosporidium* en andere parasieten. De oöcysten van *Cyclospora* vertonen namelijk autofluorescentie bij een golflengte van 340-380 nm maar om dit te zien mogen de preparaten niet te dik zijn.

2.3. Enquête 3

Er werden 2 fecessuspensies in formol verstuurd: P/10977 en P/11307.
160 laboratoria namen deel aan deze enquête.

Staal P/10977 bevatte eieren van Ancylostomatoidea, cysten van *Giardia lamblia*, cysten van *Endolimax nana*.

87 (54.4%) laboratoria vermeldden de aanwezigheid van Ancylostomatoidea (alleen of in combinatie met andere parasieten), 34 (21.2%) de aanwezigheid van *Ancylostoma duodenale* en 17 (10.6%) de aanwezigheid van *Necator americanus*: in totaal hebben dus 138 (86.2%) laboratoria parasieten behorend tot de Ancylostomatoidea vermeld

Op 1 laboratorium na (dat "cyste" antwoordde voor *N. americanus*), hebben al deze deelnemers eieren als evolutiestadium vermeld.

Giardia lamblia (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd teruggevonden door 145 (90.6%) laboratoria. De cysten werden door 140 deelnemers vermeld.

Endolimax nana (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd teruggevonden door 83 (51.9%) laboratoria. De cysten werden door 80 deelnemers vermeld.

Het begeleidende commentaar op de enquête beschreef onder andere de morfologie, levenscyclus, pathogenese en diagnose van mijnwormen. **Zoals terecht door meerdere deelnemers opgemerkt is het microscopisch onmogelijk de eieren van *A. duodenale* en *N. americanus* van elkaar te onderscheiden en antwoordt men correcter met eieren van Ancylostomatoidea of Ancylostomatidae.** Het differentiëren tussen beide soorten heeft weinig klinisch belang.

Staal P/11307 bevatte cysten van *Blastocystis hominis*.

Blastocystis hominis (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd teruggevonden door 122 (76.3%) laboratoria. De cysten werden door 104 deelnemers vermeld.

Het commentaar op de enquête ging nader in op de bestaande problemen i.v.m. deze parasiet. De huidige nomenclatuur spreekt eerder over *Blastocystis* spp. dan over *B. hominis*; hij is anaëroob en leeft in het onderste deel van de gastro-intestinale tractus (colon en caecum) van de mens en van vele zoogdieren en vogels. Hij komt wereldwijd voor en **er bestaat nog steeds controversen over zijn pathogene rol**. Hij is de parasiet die het meest teruggevonden wordt in de stoelgang, zowel bij kinderen als bij volwassenen.

Routinediagnose gebeurt door het **microscopisch aantonen van de cyst-achtige vormen** ("cyst-like stage») in verse stoelgang of door onderzoek van gekleurde uitstrijkjes (bv. trichroomkleuring).

Er worden meestal geen leukocyten aangetroffen in de stoelgang. *Blastocystis* spp. komt meestal samen met andere (al dan niet pathogene) parasieten voor.

Zowel kweek als moleculair-biologische methoden bestaan, maar deze worden geen van beide in routine gebruikt; serologie (ELISA) draagt niet bij tot de klinische diagnose.

Het betreft hier dus in elk geval een parasiet die opgevolgd moet worden en waarvoor nauwkeuriger gegevens noodzakelijk zijn.

2.4. Gebruik van de Toolkit

Het aantal antwoorden via geïnformatiseerde weg (Toolkit) bedroeg respectievelijk 70.9%, 51.5% en 52.5% 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,...

III. INFECTIEUZE SEROLOGIE

In 2011 werden serologische parameters voor *Borrelia*, CMV, EBV, Rubella, Brucella, *Chlamydomphila pneumoniae* en HIV geëvalueerd. Het aantal deelnemers varieerde afhankelijk van de geëvalueerde parameter. Tijdens de tweede enquête werden eveneens urinestalen opgestuurd voor de bepaling van het Legionella antigen.

3.1. Borrelia

Er werden 2 gelyofiliseerde plasmamonsters verstuurd, S/4897 en S/5379 waarop antistoffen tegen *Borrelia* bepaald dienden te worden.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

S/4897: Een 45 jarige boswachter heeft geen bijzondere klachten. Het onderzoek maakt deel uit van een jaarlijkse check-up.

S/5379: Bloedname uitgevoerd bij een 63-jarige man met een artritis van de rechter knie.

De verwachte resultaten waren:

S/4897: IgG negatief
IgM negatief
Interpretatie: Afwezigheid van antistoffen

S/5379: IgG negatief
IgM negatief
Interpretatie: Afwezigheid van antistoffen

138 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 247 testen uit op staal S/4897 en 246 testen op staal S/5379.

De verdeling van de gebruikte testen in functie van de gebruikte technieken wordt weergegeven in tabel 3.1.1.

Tabel 3.1.1. Verdeling der gebruikte testen in functie van de techniek voor bepaling van anti-*Borrelia* antistoffen, enquête 2011/1.

Aantal testen	Aard kit	Type techniek	S/4897	S/5379
1 test	Tot. As.	algemeen	38	38
		anti-C6	11	11
2 testen	IgG en IgM	nietblot - nietblot	72	73
		blot – blot	1	1
3 testen	Tot. As. en IgG en IgM	algemeen – nietblot – nietblot	4	4
		algemeen – blot – blot	2	2
		antiC6 – nietblot – nietblot	1	1
		antiC6 – blot – blot	1	1
		IgG en 2 x IgM	nietblot – nietblot – blot	6
4 testen	2 x IgG en 2 x IgM	nietblot – blot – nietblot – blot	1	1
6 testen	3 x IgG en 3 x IgM	nietblot – nietblot – blot – nietblot– nietblot – blot	1	1

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- totale antistoffen (zelfde percentages voor beide stalen): VIDAS Lyme IgG+IgM (bioMérieux) (77.2%) en C6 B. burgdorferi (Lyme) ELISA (Immunetics) (22.8%)
- IgG (zelfde percentages voor beide stalen): Liaison *Borrelia* IgG (Diasorin) (54.3%) en *Borrelia* Plus VLsE Elisa IgG (Euroimmun) (21.8%)
- IgM: Liaison *Borrelia* IgM II (Diasorin) (46.9% en 47.4%) en Anti-*Borrelia* Elisa (IgM) (Euroimmun) (20.4% en 20.6%)

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de totale antistoffen en de IgG voor staal S/4897, ongeacht de gebruikte techniek. Voor de IgM, bekwamen 70 (82.3%) laboratoria een negatief resultaat, 4 een borderline en 11 een positief met de non-blottechnieken; met de blottechnieken bekwamen 10 een negatief en 2 een positief resultaat.

128 (92.8%) laboratoria gaven de interpretatie "Afwezigheid van antistoffen"; 6 laboratoria kozen voor "Aanwezigheid van *Borrelia* antistoffen" en 2 voor de interpretatie "Aanwezigheid van *Borrelia* antistoffen. Het serologisch resultaat ondersteunt de diagnose van Lyme borreliosis niet indien de klachten al meer dan 6 weken aanwezig zijn." Twee gaven een eigen interpretatie die verwees naar een borderline resultaat voor de IgM.

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de totale antistoffen voor staal S/5379, ongeacht de gebruikte techniek. Voor de niet-blot testen voor IgG bekwamen 84 (98.8%) laboratoria een negatief resultaat en één laboratorium een borderline resultaat. Voor de IgG blottesten bekwamen 3 laboratoria een negatief resultaat, 2 een borderline en één laboratorium een positief resultaat.

Voor de IgM, bekwamen 72 (84.7%) laboratoria een negatief resultaat, 9 een borderline en 4 een positief met de non-blottechnieken; met de blottechnieken bekwamen 8 een negatief en 2 een borderline en één laboratorium een positief resultaat.

129 (93.5%) laboratoria gaven de interpretatie "Afwezigheid van antistoffen"; 4 laboratoria kozen voor "Aanwezigheid van *Borrelia* antistoffen" en 2 voor de interpretatie "Aanwezigheid van *Borrelia* antistoffen. Het serologisch resultaat ondersteunt de diagnose van Lyme borreliosis niet indien de klachten al meer dan 6 weken aanwezig zijn." Drie gaven een eigen interpretatie die verwees naar een borderline resultaat voor de IgM.

Aangezien alle niet-negatieve resultaten voor beide stalen bekomen werden met de kits van de firma Euroimmun, werd deze firma gecontacteerd met de vraag deze stalen te analyseren. De resultaten van hun onderzoek werden opgenomen in het globaal rapport van de enquête.

Het commentaar op de enquête benadrukte dat de meeste "technische" resultaten correct waren (zeker voor IgG en totale As) en ging dieper in op de problematiek van de hierboven vermelde kits van Euroimmun: de ELISA-testen van Euroimmun bevatten de natieve antigenen van de 3 belangrijkste *Borrelia* species, wat hun waarschijnlijk heel gevoelig maakt, maar eveneens minder specifiek omwille van de aanwezigheid van het proteïne p41, het flagellaire antigeen dat gemeenschappelijk is voor alle spirochetes. De minder goede specificiteit van deze testen leidt dus tot het uitvoeren van onnodige en dure immunoblots. Een alternatief voor de gebruikers van deze kits zou kunnen zijn om 2 à 3 weken later een controlestaal te vragen in plaats van onmiddellijk een immunoblot uit te voeren.

Het commentaar vermeldde eveneens dat de meeste interpretaties correct waren en behandelde tevens de enkele afwijkende interpretaties, met name « Aanwezigheid van *Borrelia* antistoffen » enkel op basis van een positieve ELISA IgM test: de specificiteit van de anti-*Borrelia* IgM is zeer variabel naargelang de kits en kan dalen tot 52 % bij patiënten met een virale infectie of rheumafactor. Het is dus belangrijk de aanwezigheid van de IgM te bevestigen met een immunoblot of nog beter, het verschijnen van de IgG op een controleserum 2 of 3 weken later te controleren. Inderdaad, zelfs de IgM immunoblots vertonen onderling een slechte concordantie, waarbij sommigen specificiteit missen.

De belangrijke slotconclusie van het commentaar luidde: **de diagnose van borreliose blijft moeilijk**, omwille van de **grote variabiliteit in de performantie van de beschikbare serologische testen en de geringe gevoeligheid van de rechtstreekse detectie van de pathogeen**. De klassieke aanbevelingen bestaan erin een **screeningstest uit te voeren van de IgG en IgM of totale antistoffen met een**

immunoassay, gevolgd door een immunoblot in geval van positiviteit. De bevestiging door immunoblot is niet altijd noodzakelijk indien er een sterk vermoeden van borreliose is. In geval van erythema migrans, pathognomonische manifestatie, gebeurt de diagnose klinisch en is serologie niet noodzakelijk.

De resultaten van de Borrelia serologie moeten altijd geïnterpreteerd worden in functie van de klinische inlichtingen. De aanwezigheid van specifieke antistoffen bewijst de aanwezigheid van de ziekte niet maar kan te wijten zijn aan een oud contact, dat al dan niet symptomatisch was. Gezien de geringe gevoeligheid in de eerste weken, is het belangrijk een follow-up staal af te nemen indien de serologie negatief of twijfelachtig is, maar enkel in geval van vermoeden van een recente infectie.

3.2. CMV

Er werden 2 stalen rondgestuurd voor het uitvoeren van de CMV-serologie.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

S/4173: Een vrouw op vruchtbare leeftijd raadpleegt haar arts voor een griepaal syndroom met koorts, spierpijnen en algemeen gevoel van onwelzijn. Het staal werd afgenomen één maand na de start van de klinische symptomen.

S/4898: Eén week nadien raadpleegt de echtgenoot van de boven vermelde patiënte zijn huisarts met dezelfde klachten

De verwachte resultaten waren:

S/4173: IgG: negatief
IgM: negatief
Interpretatie: Negatieve CMV serologie

S/4898: IgG positief
IgM negatief
Aviditeit hoog
Interpretatie: Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte CMV infectie

168 laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 337 testen uit op staal S/4173 en 359 testen op staal S/4898.

De testen uitgevoerd op staal S/4173 waren als volgt verdeeld: 1 bepaling van de totale antistoffen, 168 IgG, 167 IgM en 1 aviditeitsbepaling. De testen uitgevoerd op staal S/4898: 1 bepaling van de totale antistoffen, 169 IgG, 169 IgM en 20 aviditeitsbepalingen. Een overzicht van het aantal en type bepalingen per laboratorium wordt in tabel 3.2.1 weergegeven.

Tabel 3.2.1. Aantal deelnemers verdeeld per uitgevoerde parameters voor CMV (EKE 2011/1)

Aantal testen	Type test	S/4173	S/4898
1 test	IgG	3	3
2 testen	IgG + IgM	160	141
	IgG + totale AS	1	1
3 testen	IgG + IgM + aviditeit	1	17
	IgG + IgM + IgM	3	3
4 testen	IgG + IgM + IgM + aviditeit	-	2
	IgG + IgG + IgM + aviditeit	-	1
Totaal		168	168

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- IgG: Architect CMV IgG (22.6% en 22.5%), Liaison CMV IgG (Diasorin) (20.2% en 20.1%), VIDAS CMV IgG (bioMérieux) (16.1% en 16.6%) en AxSYM CMV IgG (Abbott) (14.9% en 14.8%)
- IgM: Architect CMV IgM (21.6% en 21.3%), Liaison CMV IgM (Diasorin) (21.0% en 20.7%), VIDAS CMV IgM (bioMérieux) (19.2% en 19.5%) en AxSYM CMV IgM (Abbott) (10.8% en 10.7%)
- Aviditeit (staal S/4898) VIDAS CMV IgG avidity (bioMérieux) (75.0%) en Liaison CMV IgG avidity (Diasorin) (20.0%)

Het laboratorium dat de totale antistoffen bepaalde, bekwam een negatief resultaat voor staal S/4173.

166 (98.8%) laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de IgG voor dit staal. Twee laboratoria hebben een positief resultaat geantwoord: één van beide heeft wellicht beide stalen omgewisseld ("negatief" resultaat voor S/4898); het andere heeft wellicht het verkeerde vakje aangekruist (kwantitatief resultaat wijst op een negatief resultaat en interpretatie is "negatieve serologie")

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de IgM.

164 (97.6%) laboratoria gaven de interpretatie "Negatieve CMV serologie"; 1 laboratorium antwoordde "Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte CMV infectie", één "Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie" en één "IgG negatief". Tenslotte gaf 1 labo geen interpretatie.

Het laboratorium dat de totale antistoffen bepaalde, bekwam een positief resultaat voor staal S/4898.

165 (98.2%) laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de IgG voor dit staal. Eén laboratorium bekwam een borderline resultaat. Twee laboratoria hebben een negatief resultaat geantwoord: één van beide heeft wellicht beide stalen omgewisseld (cfr. supra); het andere heeft wellicht het bij het invullen IgG en IgM omgewisseld (IgM is "positief" maar de interpretatie "vroeger doorgemaakte infectie").

159 (97.0%) laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de IgM met alle gebruikte technieken. Eén labo bekwam een borderline resultaat en twee een positief resultaat (waaronder het hoger vermeldde labo dat IgG en IgM wellicht omgewisseld heeft). Twee laboratoria bekwamen verschillende resultaten voor de 2 gebruikte technieken (negatief en borderline; negatief en positief).

17 laboratoria bekwamen een hoge aviditeit, één laboratorium antwoordde "intermediair" (kwantitatief resultaat: 68.7%) en 2 laboratoria antwoordden "laag" (kwantitatieve resultaten respectievelijk: 28% en 75.5%).

162 (96.4%) laboratoria gaven de interpretatie "Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte CMV infectie"; 1 laboratorium antwoordde "Negatieve CMV serologie", één "Serologie suggestief voor een CMV primoinfectie", twee labo's vermeldden de noodzaak voor een nieuwe staalname en één labo antwoordde "IgG negatief". Tenslotte gaf 1 labo geen interpretatie.

Het commentaar op de enquête besprak de algemene benadering van een mogelijke CMV-infectie: **de diagnose van cytomegalovirus infectie** in immunocompetente patiënten in het algemeen, en in zwangeren in het bijzonder, **gebeurt serologisch**. Ze is voornamelijk gebaseerd op **een geobjectiveerde seroconversie of op een significante toename in titer van geassocieerde IgG-antilichamen**. Hoedanook is het in geval van aanwezigheid van maar één geïsoleerd serumstaal, of in geval van IgG titers die een plateau fase bereiken, onmogelijk om, in concomitante aanwezigheid van IgM, de infectie trachten te dateren of om primaire infectie te onderscheiden van reactivatie, reinfectie of polyclonale stimulatie louter aan de hand van IgG en IgM analyses. Deze informatie is nochtans onontbeerlijk voor accurate prenatale diagnostiek, waar men streeft naar kennis betreffende CMV primo-infectie. **De anti-CMV IgG aviditeitstest is actueel de meest betrouwbare serologische procedure om primo-infectie uit te sluiten (in geval van hoge aviditeit). Een lage aviditeitsindex kan vroeger doorgemaakte infectie niet uitsluiten**, gezien er een proportie geïnfecteerde patiënten is die gedurende lange tijd persisterende lage aviditeits-IgG antilichamen vertonen. Dit is te wijten aan de uitgesproken interindividuele variatie wat betreft maturatie van IgG-antilichamen in de loop van de tijd na primaire infectie. Het percentage personen in de algemene bevolking met hoge CMV IgG aviditeitsantistoffen is daarenboven afhankelijk van de specifieke gebruikte laboratoriumtest en de eraan geassocieerde gehanteerde cut-off.

Met betrekking tot de enquête stelde het commentaar dat voor staal S/4173 nagenoeg alle resultaten en interpretaties correct waren. Voor staal S/4898, verwees het commentaar voor de IgM bepaling naar het hierboven beschreven probleem met de kit AxSYM CMV IgM, waarmee de in totaal vier “vals-positieve” of “borderline” resultaten gemeten werden. Positief is dat de gebruikers van deze kit voor een deel het probleem kennen blijktbaar, gezien twee van deze 4 laboratoria een tweede IgM techniek in huis hebben, zodat ze de rapportering van een aspecifieke IgM kunnen onderscheppen en naar de clinicus toe een juiste eindinterpretatie kunnen geven. Omtrent de uitvoering van een CMV IgG aviditeitsbepaling op dit serumstaal kan men initieel zeggen dat in routinesetting, er geen enkel argument is om bij een jonge gezonde man deze test uit te voeren. Waarschijnlijk werd de aviditeit toch door 20 laboratoria bepaald omdat het om een EKE ging.

3.3. EBV

Er werd 1 staal (IS/11067) rondgestuurd voor bepaling van de antistoffen tegen EBV. De laboratoria met even en oneven erkenningsnummer ontvingen onder hetzelfde staalnummer evenwel een verschillend staal.

Het staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

“Een student van 18 jaar heeft last van rillingen, lichte koorts, hoofdpijn, gebrek aan eetlust en uitgesproken vermoeidheid. Hij meldt zich bij de huisarts waar een bloedafname verricht wordt.”

De verwachte resultaten waren:

Even laboratoria: Heterofiele AS: negatief
 IgG (totaal, VCA, EBNA): negatief
 IgM (totaal, VCA): negatief
 Interpretatie: Negatieve EBV serologie

Oneven laboratoria: Heterofiele AS: negatief
 IgG (totaal, VCA, EBNA): positief
 IgM (totaal, VCA): negatief
 Interpretatie: Serologie suggestief voor een vroeger
 doorgemaakte EBV infectie

154 klinische laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug: 88 met even erkenningsnummer en 66 met oneven erkenningsnummer.

De 88 even laboratoria voerden 265 testen uit (47 heterofiele As, 9 totale IgG, 10 totale IgM, 57 VCA IgG, 14 VCA-EA IgG, 76 VCA IgM, 45 EBNA IgG, 6 EA IgG en 1 EA IgM).

De 66 oneven laboratoria voerden 203 testen uit (48 heterofiele As, 6 totale IgG, 6 totale IgM, 37 VCA IgG, 9 VCA-EA IgG, 55 VCA IgM, 36 EBNA IgG, 5 EA IgG en 1 EA IgM).

Een overzicht van het aantal en type bepalingen per laboratorium wordt in tabel 3.3.1 weergegeven.

Tabel 3.3.1. Verdeling van de uitgevoerde testen per laboratorium voor EBV (2011/2).

Aantal testen	Parameter	Even laboratoria	Oneven laboratoria
1 test	Heterofiele AS	2	3
2 testen	Heterofiele AS + EBNA IgG	-	1
	VCA IgG + VCA IgM	14	7
	VCA-EA IgG + VCA IgM	3	2
	EBNA IgG + VCA IgM	1	1
	Totale IgG + Totale IgM	2	-
3 testen	Heterofiele AS + VCA IgG + VCA IgM	15	10
	Heterofiele AS + VCA-EA IgG + VCA IgM	3	3
	Heterofiele AS + Totale IgG + Totale IgM	4	5
	Heterofiele AS + EBNA IgG + VCA IgM	3	8
	Heterofiele AS + EBNA IgG + Totale IgM	1	-
	Heterofiele AS + EBNA IgG + EA IgM	-	1
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	9	7
	VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	6	-
	Totale IgG + Totale IgM + EBNA IgG	2	-
	Heterofiele AS + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	13	8
4 testen	Heterofiele AS + VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	2	4
	Heterofiele AS + Totale IgG + Totale IgM + EBNA IgG	1	1
	2 Heterofiele AS + VCA IgM + EBNA IgG	1	-
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	4	1
5 testen	Heterofiele AS + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	1	4
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG + EA IgM	1	-
Totaal		88	66

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- Heterofiele As: Clearview IM (Alere Health) (63.8% (paar) en 70.8% (onpaar))
- Totale IgG: Enzygnost anti-EBV IgG (Siemens) (100%, beide groepen)
- VCA-EA IgG: VIDAS EBV VCA-EA IgG (bioMérieux) (100%, beide groepen)
- VCA IgG: Liaison VCA IgG (DiaSorin) (52.6% (paar) en 54.1% (onpaar)) en Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgG Elisa (Euroimmun) (14.0% (paar) en 8.1% (onpaar))
- EBNA IgG: Liaison EBNA IgG (DiaSorin) (44.4% (paar) en 42.9% (onpaar)) en VIDAS EBV EBNA IgG (bioMérieux) (22.2% (paar) en 27.8% (onpaar))
- EA IgG: Liaison EA IgG (DiaSorin) (66.7% (paar) en 80% (onpaar))
- Totale IgM: Enzygnost anti-EBV IgM II (Siemens) (100%, beide groepen)
- VCA IgM: Liaison EBV IgM (DiaSorin) (42.1% (paar) en 40% (onpaar)), VIDAS EBV VCA IgM (bioMérieux) (18.4% (paar) en 23.6% (onpaar)) en Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgM Elisa (Euroimmun) (11.8% (paar) en 7.3% (onpaar))

Pare laboratoria

93.5% van de laboratoria vonden de heterofiele As negatief; 4.3% bekwamen een borderline resultaat en één laboratorium vermeldde dat de interpretatie van de heterofiele As onmogelijk was.

Alle laboratoria die de IgG en IgM bepaalden, vonden deze negatief, ongeacht de aard van deze antistoffen.

97.7% van de laboratoria gaven de correcte interpretatie "Negatieve EBV serologie". Eén laboratorium stelde voor "Borderline positieve heterofiele As, om een beginnende EBV-infectie uit te sluiten is een nieuwe staalname vereist"; en 1 laboratorium gaf geen interpretatie.

Onpare laboratoria

97.9% van de laboratoria vonden de heterofiele As negatief; één laboratorium bekwam een positief resultaat.

Alle laboratoria die de totale IgG, VCA-EA IgG en EBNA IgG bepaalden, vonden deze positief. 99.4% van de laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de VCA IgG en twee laboratoria een negatief (in één van beide gevallen betreft het mogelijk een overschrijffout: voor de VCA IgM antwoordde dit laboratorium immers “positief”).

Alle laboratoria die de totale IgM en EA IgM bepaalden, vonden deze negatief. 98.2% van de laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de VCA IgM en één laboratorium een positief (mogelijke overschrijffout: cfr. supra)

90.9% van de laboratoria gaven de correcte interpretatie “Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie”; 4.5% stelden voor “Negatieve EBV serologie”. Tevens gaf één laboratorium de interpretatie “verworven immuniteit”; 1 laboratorium “Positieve reactie in de IgM assay voor EBV; om een primaire EBV-infectie uit te sluiten is een bevestiging nodig door bijkomende testen (met name GOT/GPT, lymfocyttaire formule, R = T, Paul-Bunnel-Davidson)” en één laboratorium, dat enkel de heterofiele As bepaalde meldde dat de andere parameters bepaald dienen te worden om een correcte interpretatie te kunnen geven..

Het commentaar benadrukte dat de **interpretatie “negatieve EBV serologie” op basis van de bepaling van heterofiele antilichamen alleen niet correct is**. Zoals gekend is zowel de specificiteit als de sensitiviteit van heterofiele antilichamen niet van die aard dat hieruit een dergelijk besluit kan volgen. Aanwezigheid van heterofiele antistoffen, indien aangevraagd in de gepaste klinische setting, is “vrij” specifiek voor een acute EBV infectie, maar de gevoeligheid is eerder laag, zeker bij kinderen. Tien tot 50% van kinderen < 5 jaar zijn niet in staat om heterofiele antilichamen te produceren, en ook bij adolescenten en volwassenen (zeker bij ouderen) is de sensitiviteit niet 100%. Vals positieve heterofiele antistoffen kunnen teruggevonden worden bij patiënten met leukemie, lymfoom, Rubella infectie,... Ook kunnen heterofiele antistoffen soms vrij lang persisteren.

Bij de meeste **immuuncompetente** personen **volstaat de bepaling van 3 serologische parameters voor de interpretatie van de EBV serologie: VCA IgM (Viral Capsid Antigen) VCA IgG, en EBNA-1 IgG (Epstein Barr Nuclear Antigen)**. De aanwezigheid van EBNA-1 antilichamen sluit een recente primaire infectie definitief uit. Maar niet alle individuen produceren EBNA-1 IgG en bovendien kunnen EBNA-1 IgG opnieuw verloren gaan.

Een EBV primo-infectie wordt gekenmerkt door het vroeg verschijnen van anti-VCA IgM. Wanneer de anti-VCA-IgG verschijnen nemen de anti-VCA IgM af tot volledig verdwijning. De anti-VCA-IgG blijven in immuuncompetente personen levenslang aanwezig. Een voorbijgaande EBV-infectie wordt gekenmerkt door de afwezigheid van anti-VCA IgM en de aanwezigheid van IgG tegen zowel VCA als EBNA.

Hierbij vindt u de tabel voor de interpretatie van de verschillende serologische parameters.

Table 1. Interpretation of EBV-specific serological profiles for diagnosis					
Atypical lymphocytes	Heterophile antibodies	VCA IgG	VCA IgM	EBNA-1 IgG	Interpretation
-	-	-	-	-	No infection
+/-	+/-	+	+	-	Acute infection
-	-	+	-	+	Past infection
-	-	+	+	+	Past infection most probable
+/-	+/-	+	-	-	Past infection**
-	-	-	+	-	Undetermined*
-	-	-	-	+	Impossible***

*Follow-up serum necessary to evidence seroconversion IgG (early phase infection)

** Additional testing could be useful in specific circumstances, e.g. VCA-IgG avidity testing, Western blotting, or PCR

***Exceptionally when used in combination with an insensitive VCA-IgG test

3.4. Rubella

Er werd 1 staal (IS/11068) rondgestuurd voor bepaling van de antistoffen tegen Rubella. De laboratoria met even en oneven erkenningsnummer ontvingen onder hetzelfde staalnummer evenwel een verschillend staal.

Het staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

“Een jonge dame, die niet gevaccineerd werd in haar jeugd, meldt zich bij de arts met rash en koorts.”

De verwachte resultaten waren:

Even laboratoria: IgG: positief
IgM: negatief
Interpretatie: Immuniteit

Oneven laboratoria: IgG: positief
IgM: borderline tot positief
Interpretatie: Mogelijkheid van een recente infectie

153 klinische laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug: 89 laboratoria met even erkenningsnummer en 64 met oneven erkenningsnummer.

De 89 even laboratoria voerden 174 testen uit: 6 laboratoria voerden 1 test uit, 82 laboratoria voerden 2 testen uit en 1 laboratorium 4 testen.

Alle laboratoria die 1 test uitvoerden bepaalden de IgG antistoffen. De 82 laboratoria die 2 bepalingen uitvoerden bepaalden IgG en IgM; het laboratorium dat 4 bepalingen uitvoerde bepaalde 2 maal IgG en 2 maal IgM (met verschillende methoden).

In totaal werden dus 90 bepalingen van IgG en 84 van IgM uitgevoerd.

De 64 oneven laboratoria voerden 129 testen uit: 5 laboratoria voerden 1 test uit, 53 laboratoria voerden 2 testen uit en 6 laboratoria 3 testen.

Vier laboratoria die 1 test uitvoerden, bepaalden de IgG en 1 de totale antistoffen. De 53 laboratoria die 2 bepalingen uitvoerden bepaalden IgG en IgM; de 6 laboratoria die 3 bepalingen uitvoerde bepaalden IgG en 2 maal IgM (met verschillende methoden).

In totaal werden dus 1 bepaling van de totale antistoffen, 63 bepalingen van IgG en 65 van IgM uitgevoerd.

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

-IgG: Architect Rubella IgG (Abbott) (21.1% (paar) en 31.7% (onpaar)), Liaison Rubella IgG (DiaSorin) (17.8% (paar) en 14.3% (onpaar)), VIDAS Rub IgG II (bioMérieux) (8.9% (paar) en 17.5% (onpaar)) en AxSYM Rubella IgG (Abbott) (8.9% (paar) en 9.5% (onpaar))

-IgM: Architect Rubella IgM (Abbott) (22.6% (paar) en 29.2% (onpaar)), Liaison Rubella IgM (DiaSorin) (19.0% (paar) en 13.8% (onpaar)) en VIDAS Rub IgM (bioMérieux) (11.9% (paar) en 23.1% (onpaar))

Pare laboratoria

Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de IgG.

94.0% van de laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de IgM; 3.6% (3 labo's) een positief resultaat en 2.4% een borderline. De drie positieve resultaten en één borderline resultaat werden bekomen met de kit Immulite Rubella IgM. De firma Siemens werd hierover gecontacteerd en bezorgde ons na onderzoek van het staal het volgende besluit:

“Results for this sample on L2KRM kit lot 211 are similar to those on kit lot 210 with nonreactive results after treatment with HBT indicating the results were affected by heterophilic interference”.

76 (87.6%) gaven de correcte interpretatie “Immunitet” of een variant. Eén laboratorium vermeldde dat de IgG aanwezig waren maar dat de bepaling van de IgM noodzakelijk is voor een correcte “interpretatie. Twee laboratoria antwoordden: “Geen immunitet”; één laboratorium opteerde voor “Mogelijkheid van een recente infectie” en één laboratorium verkoos geen interpretatie te geven.

Onpare laboratoria

96.8% van de laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de IgG en 3.2% een negatief.

55.9% van de laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de IgM; 32.2% een borderline en 5.1% een negatief. 5.1% bekwamen verschillende resultaten met de 2 gebruikte kits. Eén laboratorium gaf geen kwalitatieve interpretatie van het resultaat.

54 (84.4%) gaven de correcte interpretatie “Mogelijkheid van een recente infectie”. Zeven (10.9%) laboratoria verkozen “Immunitet” of een variant hiervan. Eén laboratorium combineerde beide interpretaties; één laboratorium antwoordde “positief” en één laboratorium gaf geen kwalitatieve interpretatie van het resultaat

Het commentaar op de enquête vermeldde dat het correct is dat het **uitsluiten van recente infectie niet mogelijk** is indien enkel IgG uitgevoerd is geweest **zonder kennis van IgM**. De interpretatie “geen immunitet” bij analytische positiviteit van IgG en negativiteit van IgM kan niet als correct beschouwd worden. Het uitvoeren van Rubella IgG aviditeitsbepaling bij mogelijks positief IgM resultaat (enkel IgG uitgevoerd door het betreffende laboratorium) kan in deze klinische context niet aangeraden worden: **IgG aviditeitsbepalingen** dienen eerder voor de **datering** van de infectie wat vooral van belang is in de vroege zwangerschap. Een **andere manier** om de recente Rubella infectie te **dateren** is het aantonen van **anti-E2 IgGs** via immunoblotting: deze IgG's gericht tegen envelope glycoproteïne E2 verschijnen 3-4 maanden na primaire Rubella infectie.

Het is belangrijk om een **recente infectie te bevestigen** door minstens een van de volgende mogelijkheden: a) **het confirmeren van een positieve IgM test met een andere analytische methode**, bij voorkeur in het Nationaal Referentielaboratorium voor Mazelen en Rubella; b) **het aantonen van evolutieve serologie** onder vorm van significante titerstijging op de nieuwe afname 1-2 weken na de oorspronkelijke bepaling (met dezelfde methode); c) het **aantonen van de afwezigheid van hoog aviede antistoffen/anti-E2 IgG's** indien het dateren van infectie belangrijk is.

3.5. Brucella

Er werd één staal (IS/7727) opgestuurd.

Het staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

“Koorts van onbekende oorsprong bij een landbouwer met uitgebreide veestapel.”

Het staal bevatte geen Brucella-antistoffen

De verwachte interpretatie was: “Afwezigheid van antistoffen.”

In het totaal stuurden 72 laboratoria hun enquêteformulier terug. Ze voerden 90 testen uit op staal IS/7727.

55 laboratoria voerden 1 test uit, 16 laboratoria voerden 2 testen uit en 1 laboratorium 3 testen.

51 testen bepaalden de totale antistoffen:

- 35 testen bepaalden de AS gericht tegen *B. abortus*
- 13 testen bepaalden de AS gericht tegen *B. melitensis*
- 3 testen bepaalden de AS gericht tegen beide

35 testen bepaalden de IgG

4 testen bepaalden de IgM

Onderstaande tabel geeft een overzicht van de combinaties van de uitgevoerde testen.

Tabel 3.5.1. Overzicht van de combinaties van testen gebruikt voor de bepaling van anti-Brucella antistoffen

Aantal testen	Type test	N labo's
1 test uitgevoerd	Totale antistoffen: <i>B. abortus</i>	21
	Totale antistoffen: beide	1
	IgG	31
	IgM	2
2 testen uitgevoerd	Totale antistoffen: <i>B. abortus</i> + <i>B. melitensis</i>	12
	IgG + Totale antistoffen: beide	2
	IgG + IgM	2
3 testen uitgevoerd	Totale antistoffen: 2 * <i>B. abortus</i> + 1 * <i>B. melitensis</i>	1
Totaal		72

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- Totale As: Stained Febrile Antigens Brucella abortus (Diamondial) (29.4%), Stained Febrile Antigens Brucella melitensis (Diamondial) (13.7%) en Febrile serodiagnostic agglutination test (BioSystems) (13.7%)
- IgG: Brucella Rose Bengal (BioRad) (97.1%)
- IgM: Brucella Wright (BioRad) (75.0%)

De resultaten kunnen als volgt samengevat worden:

91.7% (33/36) van de laboratoria die de totale As bepaalden vonden deze negatief; één labo bekwam een borderline resultaat, één een positief en één gaf geen kwalitatieve interpretatie van zijn resultaat.

94.3% (33/35) van de laboratoria die de IgG bepaalden vonden deze negatief; twee labo's bekwamen een positief resultaat.

75% (3/4) van de laboratoria die de IgM bepaalden vonden deze negatief; één labo bekwam een positief resultaat.

91.7% (66/72) laboratoria gaven de correcte interpretatie (“Afwezigheid van antistoffen”); ook het antwoord “Afwezigheid van IgM antistoffen” (gegeven door een labo dat enkel de IgM bepaalde) kan als correct beschouwd worden; 4 (5.6%) labo’s gaven de interpretatie “Aanwezigheid van antistoffen, suggestief voor een infectie” en één labo “Twijfelachtig resultaat te controleren op een 2^e afname”.

Het begeleidende commentaar vermeldde dat de **aanbevolen serologische methoden agglutinaties, Rose-Bengal en ELISA** zijn. Deze methoden laten toe om de diagnose van infecties door *Brucella* sp. te stellen. Welke serologische test men ook gebruikt, **serologische diagnose van Brucella is moeilijk** want er bestaan **kruisreacties tussen de antistoffen gericht** tegen het lipopolysacharide van *Brucella* en van andere bacteriën. In geval van **twijfelachtige serologie**, kan men na 2 weken **een tweede staal** afnemen om de diagnose te bevestigen. Een andere mogelijkheid is om het **serum naar het referentiecentrum** te sturen. Hier kunnen verschillende serologische testen in parallel uitgevoerd worden om de diagnose te verfijnen.

3.6. Chlamydomphila pneumoniae serologie

Er werd 1 staal rondgestuurd voor het uitvoeren van de *C. pneumoniae*-serologie.

Het staal was vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

IS/8687: Een 45-jarige man zonder onderliggende pathologie met aanhoudende hoest, algemene malaise, heesheid en koorts gedurende laatste 10 dagen.

De verwachte resultaten waren:

IS/8687: IgG: negatief
IgM: negatief
IgA: negatief

93 klinische laboratoria stuurden hun enquêteformulier terug. Ze voerden 186 testen uit op staal IS/8687. De testen waren als volgt verdeeld: 3 bepalingen van de totale antistoffen, 95 IgG, 18 IgM en 70 IgA. Een overzicht van het aantal en type bepalingen per laboratorium wordt in tabel 3.6.1 weergegeven.

Tabel 3.6.1. Aantal deelnemers verdeeld per uitgevoerde parameters voor *C. pneumoniae* (EKE 2011/3)

Aantal testen	Type test	IS/8687
1 test	totale AS	2
	IgG	13
	IgM	1
	IgA	4
2 testen	IgG + IgM	6
	IgG + IgA	50
3 testen	totale AS + IgG + IgM	1
	IgG + IgM + IgA	7
	2* IgG + IgA	7
4 testen	2* IgG + IgA + IgM	1
5 testen	2* IgG + IgA + 2* IgM	1
Totaal		93

* Testen 2 maal uitgevoerd met verschillende kits

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- Totale As: Chlamydia complement fixation test (Serion) (100%)
- IgG: Chlamydia pneumoniae IgG ELISA plus (Medac) (15.8%), Chlamydia MIF IgG (Focus Diagnostics) (13.7%) en Chlamydia pneumoniae IgG Elisa (Euroimmun) (12.6%)
- IgM: Chlamydia MIF IgM (Focus Diagnostics) (22.2%) en Chlamydia pneumoniae IgM Elisa (Euroimmun) (16.7%)
- IgA: Chlamydia IgA r-ELISA (Medac) (27.1%) en Chlamydia pneumoniae IgA Elisa (Euroimmun) (10.0%)

De resultaten kunnen als volgt samengevat worden:

Alle bepalingen van de totale As, IgM en IgA waren negatief.

98.8% (85/86) van de laboratoria die de IgG bepaalden vonden deze negatief; één labo bekwam een borderline resultaat.

83.9% van de laboratoria gaven de interpretatie "Serologisch profiel niet suggestief voor recente/aanwezige infectie met *Chlamydomphila pneumoniae*" of een variant hierop; 11.8% gaven de interpretatie "Serologie is niet geschikt voor de diagnostiek van recente/aanwezige infectie met *Chlamydomphila pneumoniae*": 3.2% gaven in de

interpretatie aan dat een 2^e afname aangewezen is. Één laboratorium gaf geen interpretatie.

10 van de 11 laboratoria die als interpretatie aangaven dat de serologie niet geschikt is, vermelden welke techniek ze dan wel (zouden) gebruiken voor de diagnose van *C. pneumoniae*: zeven gebruiken een moleculaire techniek en drie verwijzen naar een andere serologische techniek.

Het commentaar op de enquête vermeldde dat voor de infecties met *C. pneumoniae* het geweten is dat IgM pas na 2-3 weken en IgG na 6-8 weken verschijnen na begin van symptomen bij primaire infecties; bij reïnfecties (wat in deze casus eerder waarschijnlijk is gezien de leeftijd van de patiënt), kan IgM antwoord volledig ontbreken en IgG antistoffen verschijnen binnen 1-2 weken na het begin van de klachten.

Door het gebruik van moleculaire technieken is het aangetoond dat *C. pneumoniae* voor veel lager percentage van acute luchtweginfecties verantwoordelijk is dan algemeen werd aangenomen op basis van serologische studies. Recente wetenschappelijke gegevens gebaseerd op gebruik van PCR tonen aan dat *C. pneumoniae* zowel bij ambulante als gehospitaliseerde patiënten en in verschillende leeftijdscategorieën bij < 1% van respiratoire infecties werd gedetecteerd.

Nota: Diagnose van *C. trachomatis*

Onderstaande tabel geeft weer welke technieken de laboratoria gebruiken voor de diagnose van *C. trachomatis*. 96 laboratoria hebben deze vraag beantwoord.

Tabel 3.6.2. Diagnose van *C. trachomatis*.

N technieken	Welke technieken	N labo's
1 techniek		
	Serologie	21
	Ag-detectie	4
	Moleculaire technieken	11
2 technieken		
	Serologie + Ag-detectie	18
	Serologie + moleculaire technieken	37
	Moleculaire technieken + kweek	1
3 technieken		
	Serologie + Ag-detectie + moleculaire technieken	3
	Serologie + moleculaire technieken + kweek	1
Totaal		96

Het is belangrijk om te benadrukken dat **serologie geen plaats heeft in de diagnostiek van acute genitale infecties of in de screening van asymptomatische patiënten.** Betreffende de diagnostiek bij de individuele patiënt, wordt de serologie voornamelijk toegepast in de diagnostiek van lymphogranuloma venereum (LGV) en bij de evaluatie van tubaire infertiliteit. Ook het nut van serologie in deze 2 toepassingen blijft controversieel. De IgG en IgA *C. trachomatis* specifieke serologische testen kunnen een vermoeden van LGV versterken maar de diagnose zelf niet bevestigen. Gezien het lage risico voor de ontwikkeling van de tubaire infertiliteit na infectie met *C. trachomatis* en de gekende beperkingen van de serologie zoals onder andere kruisreactiviteit met *Chlamydothylas* en de gebrekkige standaardisatie van assays wordt het nut van de serologie voor Chlamydia ook voor deze toepassing in vraag gesteld

Er bestaat een duidelijke en gefundeerde **aanbeveling voor het gebruik van moleculaire testen op genitale, en recent ook uitgebreid naar extragenitale, stalen zowel bij man als vrouw.**

3.7. HIV

Er werden 2 “klaar-voor-gebruik” stalen (S/9591 en IS/10519) verstuurd voor de bepaling van HIV-antistoffen.

De verwachte resultaten waren:

Staal S/9591 was positief op HIV-antistoffen.

Staal IS/10519 was op negatief HIV-antistoffen.

Aan deze enquête namen 165 Belgische en Luxemburgse laboratoria deel.

Op staal S/9591 voerden de laboratoria 189 screeningstesten uit: 141 laboratoria voerden 1 test uit en 24 laboratoria 2 testen. Daarnaast vermelden, 6 deelnemers het resultaat van de Ag p24 test dat zij bekwamen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit (bioMérieux), bepaalden 3 laboratoria Ag p24 met de VIDAS HIV p24 II kit en 1 met de Innotest HIV Antigen mAb (Innogenetics); vijf laboratoria voerden een confirmatietest uit: drie met de Inno-LIA HIV I/II score (Innogenetics) en twee met de HIV-Blot 2.2 (MP Diagnostics).

Op staal IS/10519 voerden de laboratoria 178 screeningstesten uit: 152 laboratoria voerden 1 test uit en 13 laboratoria 2 testen. Daarnaast vermelden 5 deelnemers het resultaat van de Ag p24 test bekomen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit en 2 laboratoria het resultaat van het p24 Ag bekomen met de VIDAS HIV p24 II kit (bioMérieux).

De meest gebruikte reagentia waren Architect HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (24.3% en 25.8% voor de 2 stalen), AxSYM HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (10.5% en 10.1% voor de 2 stalen), VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) (10.5% en 7.8% voor de 2 stalen) en HIV Combi 2nd Generation (Roche) (8.5% en 9.0% voor de 2 stalen)

Resultaat van de screeningstesten voor S/9591: 163 (98.7%) laboratoria bekwamen een positief resultaat met de screeningstesten. Eén laboratorium bekwam een negatief resultaat (maar heeft vermoedelijk beide stalen omgewisseld) en één laboratorium gaf geen antwoord omwille van een technisch probleem.

De Ag p24 bepalingen met de VIDAS HIV DUO ULTRA kit gaven het antwoord “ND” “Not Determined” weer. We herhalen hier dat de term “ND” niet betekent dat het Ag p24 negatief is maar dat deze kit het antigen niet kan bepalen en dat een andere kit gebruikt moet worden voor deze bepaling.

De resultaten van de VIDAS HIV p24 II waren allen negatief; ook het resultaat van de Murex HIV Ag Mab was negatief.

De resultaten van de Inno-LIA HIV I/II score en de HIV-Blot 2.2 waren allen positief.

Resultaat van de screeningstesten voor IS/10519: het staal werd negatief bevonden door 158 (95.8%) laboratoria, positief door vier (2.4%) laboratoria en borderline door één laboratorium. Twee laboratoria bekwamen verschillende resultaten met de verschillende kits die ze gebruikten.

Alle resultaten van de Ag p24 testen waren negatief.

Het commentaar vermeldde dat algemeen gesproken, **de praktijk voor de HIV opsporingstesten correct in ons land blijkt**. Elk reactief of twijfelachtig resultaat moet bevestigd worden. In ons land is de **positief voorspellende waarde van een HIV opsporingstest slechts ongeveer 50%**. Dit is te wijten aan een eerder lage pretest probabiliteit van de gescreende patiënten voor HIV positiviteit. Men zal eerst het oorspronkelijke staal naar een AIDS referentielaboratorium opsturen ter bevestiging, en indien positief, een tweede onafhankelijk staal van dezelfde patiënt testen.

(<https://www.wiv-isp.be/epidemiology/EPIEN/AIDSEN/ARLEN/nSERO.html>)

Merk op dat de HIV DUO Ultra test van bioMérieux geen eigenlijke antigeendetectietest is. Wanneer het resultaat positief is voor antistoffen wordt voor de antigeencomponente ND

(not detected) geantwoord, wat niet "negatief" betekent. De test is inderdaad slechts voor één van de twee componenten reactief.

3.8. Legionella Ag

Er werden 2 urinestalen (Ag/6792 en Ag/11069) rondgestuurd waarop de bepaling van het Legionella-antigen gevraagd werd.

Staal Ag/6792 was negatief en staal Ag/11069 was positief.

In het totaal stuurden 79 laboratoria hun antwoordformulier terug.
78 laboratoria voerden 1 test uit en 1 laboratorium 2 testen.

De meest gebruikte reagentia waren Binax Now Legionella Urinary Ag test (Alere Health) (78.8%) en SAS Legionella Test (SA Scientific) (8.8%).

Voor staal Ag/6792 bekwamen alle laboratoria een negatief resultaat.

Voor staal Ag/11069 bekwamen 78 laboratoria een positief resultaat en één labo een negatief resultaat.

THE END