

**BIOLOGISCHE GEZONDHEIDSRISICO'S
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

**COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE
EXPERTENCOMITE**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE VOOR
ANALYSES KLINISCHE BIOLOGIE**

**DEFINITIEF GLOBAAL JAARRAPPORT
MICRO/SERO/PARA
2022**

Sciensano/Micro/Sero/Para/135-NL

Biologische gezondheidsrisico's
Kwaliteit van laboratoria
J. Wytsmanstraat, 14
1050 Brussel | België

www.sciensano.be

EXPERTENCOMITE

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

Een draft versie van dit rapport werd via mail voorgelegd aan de experts op: 01/02/2023.

Autorisatie van het rapport : door Kris Vernelen, enquêtecoördinator



Publicatiedatum : 28/02/2023

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

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

Inhoudstafel

I. MICROBIOLOGIE	4
1.1. Verslag van de identificatie van de culturen	4
1.2. Evaluatie van de gevoeligheidsbepalingen.....	6
II. PARASITOLOGIE	22
Enquête 1	22
Enquête 2	22
Enquête 3	24
III. INFECTIEUZE SEROLOGIE	25
Syfilis	25
Borrelia	29
CMV.....	34
EBV	36
Interpretatie van CMV en EBV	38
Toxoplasma.....	39
Hepatitis A.....	41
HIV.....	43
COVID-19*	44

I. Microbiologie

In 2022 werden er 3 enquêtes georganiseerd in het kader van de EKE in de microbiologie. 125 laboratoria namen aan minstens één enquête deel. Eén laboratorium (0.8 %) nam deel aan 1 enquête, twee (1.6 %) namen deel aan 2 enquêtes en 122 (97.6 %) aan 3 enquêtes. De deelname van de laboratoria bedroeg voor de opeenvolgende enquêtes 124, 123 en 124. Men onderscheidt 90 hospitaallaboratoria, 22 privé laboratoria, 4 laboratoria in poliklinieken en 9 andere laboratoria.

1.1. Verslag van de identificatie van de culturen

Verdeling van de resultaten per monster.

Er werden 12 stalen verstuurd: 11 onder gevriesdroogde vorm en 1 gesimuleerd staal (feces). De correcte en aanvaardbare identificaties werden telkens in het globaal rapport vermeld, samen met een korte omschrijving van de kenmerken van de kiemen.

Legionella pneumophila (respiratoir staal; enquête 2022/2) werd nog steeds uit didactische gronden verstuurd: het is duidelijk dat de klinische inlichtingen niet bij alle laboratoria het vermoeden van een *Legionella*/atypische pneumonie oproepen. Bovendien beschikken vele laboratoria nog steeds niet over de geschikte bodem voor het opkweken van *Legionella*.

Campylobacter coli (stoelgang; enquête 2022/2) gezien het voorziene langdurige transport (problemen met B-Post) een ongunstig effect had op het overleven van de kiem in een gesimuleerd staal, werden deze resultaten niet geëvalueerd.

In totaal moesten de laboratoria dus 10 te evalueren antwoorden inleveren.

Tabel 1.1. Verdeling van de resultaten per monster. De oorsprong van elke kiem wordt tussen haakjes vermeld.

Enquête	Kiem	% aanvaardbare identificaties
2022/1	<i>Streptococcus canis</i> (hemocultuur)	89.6
	<i>Burkholderia cepacia</i> (sputum)	96.0
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (hemocultuur)	99.2
	<i>Candida albicans</i> (hemocultuur)	99.2
2022/2	<i>Staphylococcus aureus</i> (peroperatief diep staal)	99.2
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (endotracheale aspiratie)	100
2022/3	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (hemocultuur)	97.6
	<i>Achromobacter xylosoxidans</i> (sputum)	95.2
	<i>Staphylococcus aureus</i> (hemocultuur)	99.2
	<i>Kingella kingae</i> (gewrichtsvocht)	96.7

De percentages voor *C. albicans* en *P. aeruginosa* van de 1^e enquête bedragen "slechts" 99.2% omdat er één laboratorium die stalen uitbesteedt en dus geen antwoord gaf voor de identificatie.

Tijdens de 1^e enquête werd ook een uitstrijkje verstuurd voor de Gramkleuring. Dit bevatte gisten. Deze werden door alle laboratoria teruggevonden.

Voor *S. aureus* uit de EKE 2022/2 bedraagt het percentage geen 100% omdat een laboratorium een foutief antwoord (*S. intermedius*) indiende. Voor *S. aureus* uit de EKE 2022/3 bedraagt het percentage geen 100% omdat een laboratorium omdat één laboratorium vermeldde dit type staal uit te besteden.

Verdeling van de laboratoria volgens het aantal aanvaardbare identificaties.

Elk laboratorium diende 10 identificaties te verwezenlijken. 101 (80.8%) laboratoria hebben alle identificaties correct of aanvaardbaar geantwoord. In het totaal hebben 24 (19.2 %) laboratoria niet-aanvaardbare identificaties vermeld. Onderstaande tabel geeft de verdeling van de laboratoria weer volgens het aantal niet aanvaardbare identificaties.

Laboratoria met klinisch belangrijke afwijkingen worden gecontacteerd door de inspecteurs voor de respectievelijke taalgebieden.

Tabel 1.2. Aantal niet aanvaardbare identificaties

Aantal niet aanvaardbare identificaties	Aantal laboratoria (N = 125)
0	101 (80.8%)
1	15 (12.0%)
2	8 (6.4%)
3	1 (0.8%)

1.2. Evaluatie van de gevoeligheidsbepalingen

De gevoeligheid van 6 kiemen, *Candida albicans* M/18472, *Pseudomonas aeruginosa* M/18740, *Staphylococcus aureus* M/18480, *Pseudomonas aeruginosa* M/18936, *Stenotrophomonas maltophilia* M/19114 *Staphylococcus aureus* M/18480 en *Kingella kingae* M/19310 werden uitgetest elk tegenover een afzonderlijke reeks antibiotica.

***Candida albicans* M/18472**

Tijdens deze enquête werd voor het eerst een antifungigram gevraagd op didactische basis.

Het commentaar op de enquête beschreef de identificatie en de uitvoering van het antibiogram.

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

Over het algemeen kan *C. albicans* gemakkelijk geïdentificeerd worden met Maldi-Tof MS vanuit 1 kolonie mits toevoegen van mierenzuur 70%. Scores boven 1.7 met minstens 3 maal hetzelfde resultaat worden als betrouwbaar beschouwd voor identificatie tot op speciesniveau voor *Candida sp.* Multipelen studies hebben inderdaad aangetoond dat het verlagen van de cutoff tot 1.7 in plaats van 2, zoals aangeraden door de fabrikant, zou toelaten om het aantal correcte identificaties te verhogen zonder de precisie van de identificatie tot op speciesniveau in het gedrang te brengen [3]. In laboratoria die niet over een Maldi-Tof MS, beschikken, kunnen chromogene bodems, zoals bijvoorbeeld de Candi-select van Biorad of de ChromID Candida van bioMérieux helpen bij de identificatie. Een specifieke enzymatische reactie zorgt ervoor dat de *Candida albicans* kolonies een kleur vertonen die eigen is aan de bodem die speciesidentificatie toelaat. Biochemische testen zoals de API32C (bioMérieux) galerij kunnen eveneens gebruikt worden om de identificatie te bevestigen. Het species *C. albicans* onderscheidt zich meer bepaald door zijn vermogen om glucose en maltose te fermenteren en om koolstof te assimileren vanuit xylose, maltose, galactose en trehalose. Met deze fenotypische methoden (cultuur op chromogene media, biochemische testen,), is verwarring met *C. dubliniensis* echter mogelijk. *Candida albicans* kan gemakkelijk onderscheiden worden van *C. dubliniensis* met moleculair biologische technieken en met Maldi-Tof MS. De analyse van het proteïneprofiel laat inderdaad gemakkelijk toe om deze verwante species te differentiëren. Het uitvoeren van een PCR die de niet-coderende regio ITS « internal transcribed spacer » van de gist amplificeert, gevolgd door een sequencing laat eveneens toe het onderscheid tussen beide species te maken. De beide species verschillen inderdaad op het niveau van het genoom en meer bepaald op het niveau van de regio ITS want verschillen op niveau van 20 basen binnen deze regio werden aangetoond .

Het uitvoeren van een antifungigram op een *C. albicans* stam die uit een hemocultuur geïsoleerd wordt, is onontbeerlijk. De recente aanbevelingen voor de behandeling van candidemie raden het gebruik aan van echinocandinen in de eerste lijnsbehandeling. Hoewel het resistentieniveau voor deze klasse van antifungale middelen heel laag is, werd het ontstaan van resistentie reeds aangetoond bij patiënten die voorafgaandelijk

behandeld werden met echinocandinen. Deze resistentie is gelinkt aan een mutatie van het gen dat codeert voor de subeenheid Fks1 of Fks2 (Fks2, enkel bij *C. glabrata*) van het glucaan synthase dat leidt tot een vermindering van de affiniteit van het enzyme voor de echinocandinen. Deze mutatie leidt in het algemeen tot een kruisresistentie tegen alle echinocandinen, daarom wordt aangeraden om minstens één echinocandine te testen in geval van een positieve hemocultuur met *Candida* sp. De huidige richtlijnen raden eveneens het gebruik aan van fluconazole in afnemende doses voor invasieve candidiasis. Gezien het verschijnen van resistentiemechanismen tegen de azolen is het uitvoeren van een antifungigram naast een exacte identificatie van primordiaal belang. Er zijn inderdaad wereldwijd multipale mutaties beschreven in het gen ERG11, dat codeert voor 14 α -demethylase dat de synthese van ergosterol toelaat vanuit lanosterol, die verantwoordelijk zijn voor de verhoging van de MIC-waarden bij *Candida* sp. met inbegrip van *C. albicans*. Andere resistentiemechanismen zoals overexpressie van ERG11 evenals effluxpompen van het type ABC of MFS zijn eveneens beschreven bij *C. albicans* en andere *Candida* sp.]. *Candida krusei* vertoont een constitutieve resistentie tegen fluconazole en *C. glabrata* vertoont een verminderde gevoeligheid voor dit antifungicum, wat het belang van een exacte identificatie benadrukt.

Het is daarenboven belangrijk om over een goede richtlijn voor de interpretatie van de resultaten te beschikken in functie van de gebruikte methode. Voor de diskdiffusie en E-testen, moeten de richtlijnen van de CLSI, (laatst gepubliceerde document is document M60) gebruikt worden. Deze richtlijnen zijn eveneens aanbevolen voor de interpretatie van de resultaten die bekomen werden met de Sensititre YeastOne (Thermo Fisher) en de Vitek 2 (bioMérieux) ; deze laatste gebruikt inderdaad de kaart AST-YS08 die ontwikkeld werd volgens de CLSI-standaard. De aanbevolen richtlijnen voor de Micronaut-AM (Bruker) zijn daarentegen deze van EUCAST. De EUCAST microdilutie is een Europese techniek die afgeleid werd van de CLSI-methode. Ze onderscheidt zich hiervan door een hogere glucose-concentratie in de cultuurbodem (2% in plaats van 0,2%), een denser inoculum (1-5 x 10⁵UFC in plaats van 0,5-2,5 x 10³UFC), aflezing door spectrofotometrie en het gebruik van “wells” met een platte bodem. Het valt op te merken dat enkel de niet-gecommercialiseerde microdilutiemethode (Eucast v.7.3.2 of CLSI M27) als referentiemethode beschouwd wordt hoewel vele studies een goede overeenkomst beschreven hebben tussen andere commerciële methoden en de referentiemethode. Het gebruik van de richtlijnen die voor de interpretatie van de resultaten door de laboratoria gebruikt werden, kan niet verder besproken worden aangezien deze informatie niet voor alle methoden beschikbaar is.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globale rapport 2022/1.

Tabel 1.3.. Resultaten der laboratoria voor de de anfungigrammen voor staal M/18472 (*Candida albicans*).

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

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

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

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

***Pseudomonas aeruginosa* M/18740**

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

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

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

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

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

De analyse van de moleculaire epidemiologie van de klinische en omgevings-isolaten van *P. aeruginosa* toont over het algemeen een grote klonale diversiteit aan. Hoewel deze observatie echter voornamelijk waar is voor isolaten die gevoelig zijn aan antibiotica, werden “hoog risico”

klonen geïdentificeerd onder de MDR/XDR stammen die wereldwijd verantwoordelijk zijn voor epidemieën in ziekenhuizen. In België heeft de moleculaire karakterisatie van 65 *P. aeruginosa* stammen die het VIM carbapenemase produceren en verzameld werden in 27 Belgische hospitalen tijdens de surveillance studie van 2016 de persisterende predominantie aangetoond van ST111 (serotype O12) en ST235 (serotype O11) die sterk verspreid zijn in de Belgische ziekenhuizen (met geïdentificeerde epidemische clusters): en deze komen overeen met de internationale hoog risico klonen (Stam M18740 maakt deel uit van kloon ST111). Desalniettemin is de pathogeniciteit van deze klonen “epidemisch hoog risico” variabel en wordt deze nog sterk bediscussieerd.

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

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

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

De laatste jaren zijn vanuit de combinatie van oude en nieuwe antibacteriële middelen 2 nieuwe anti-*Pseudomonas* antibiotica ontwikkeld voor de behandeling van MDR/XDR *P. aeruginosa*. Ceftolozaan-tazobactam (CTL/TZB) is een efficiënte associatie die ceftolozaan met een efficiëntere inhibitie van het chromosomale cefalosporinase Amp, zelfs in geval van hyperproductie door *P. aeruginosa*, combineert met tazobactam dat de andere β -lactamase van klasse A en D inhibeert. Ceftazidime-avibactam (CAZ/AVB) is een andere nieuwe therapeutische optie. Avibactam werkt als een breedspectrum inhibitor tegen de enzymen (waaronder sommige carbapenemase) van klasse A, C en D en herstelt de activiteit van ceftazidime met vermijden van de hydrolyse (voornamelijk door AmpC) bij *P. aeruginosa*. Hoewel de beide associaties (CTL/TZB en CAZ/AVB) een goede activiteit vertonen (gevoeligheid van 60%-70% volgens de gegevens van het NRC BGNMR) tegen de MDR/XDR (non-MBL) *P. aeruginosa* stammen, zijn ze daarentegen inactief tegen de carbapenemase]. Voor de behandeling van de XDR *P. aeruginosa* die vaak CPPA MBL producers zijn en die resistent zijn tegen deze nieuwe antibiotica die vaak duur of weinig beschikbaar zijn, blijft colistine (behorend tot de polymyxines) vaak de enige klassieke molecule in de laatste lijn. Sinds enkele jaren vormen de gevoeligheidsdrempels van colistine een discussiepunt zowel binnen EUCAST als binnen de CLSI die bepaalde limieten opgesteld hebben voor zijn klinisch gebruik. Eerst werd de klinische gevoeligheidsdrempel voor *P. aeruginosa* teruggezet op ≤ 4 mg/l (=ECOFF) om te vermijden de wild type populatie te splitsen en door de slechte reproduceerbaarheid van de test voor een MIC van 4 mg/l te erkennen (ATU in de EUCAST versie 2021). Vervolgens hebben de klinische gegevens en de PK/PD aangetoond dat <50 % van de patiënten met een normale nierfunctie een adequate blootstelling aan colistine bekomen (meer bepaald bij een pneumonie) geassocieerd aan een verhoogd risico aan nefrotoxiciteit. Tenslotte tonen klinische studies systematisch een verhoogde mortaliteit aan voor de in monotherapie gebruikte polymyxines in vergelijking met andere agentia. Om deze redenen beveelt de laatste versie van EUCAST 2022 aan om deze drempel van 4 mg/l te gebruiken voor *P. aeruginosa*, maar om een commentaar toe te voegen aan het rapport: « In systemische infecties moet colistine gebruikt worden in associatie met een ander actief agens » [2]. High level resistentie tegen colistine (MIC >4) bij *P. aeruginosa* blijft zeer zeldzaam en verschijnt slechts in geval van voorafgaande blootstelling aan colistine (de behandeling van MDR/XDR stammen, mucoviscidose...) en komt vooral door de modificatie van het lipopolysaccharide (LPS) ten gevolge van mutaties die gebonden zijn aan de regulatiesystemen PmrAB en PhoPQ. We herinneren er opnieuw aan dat de enige methode die aanbevolen is door EUCAST (en CLSI) voor de bepaling van gevoeligheid voor colistine de vloeibare microdilutie is en dat diffusietechnieken te mijden zijn.

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

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globale rapport 2022/1.

Tabel 1.4. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*).

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

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

- 1 Elf laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor ceftazidime en ceftazidime-avibactam.
- 2 Vier laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor imipenem en meropenem.
- 3 Zeven laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor ciprofloxacin en levofloxacin. Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor levofloxacin i.p.v. ciprofloxacin.
- 4 Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor gentamicine, amikacine en tobramycine. Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor amikacine en tobramycine.

***Staphylococcus aureus* M/18480**

Deze stam werd verstuurd vanwege een specifiek resistentiepatroon: resistent tegen clindamcine maar gevoelig voor erythromycine. Voor trimethoprim-sulfamethoxazole zijn de verschillen te verklaren door gebruik van verschillende technieken. Dit werd besproken in het globaal rapport

Het betrof een *S. aureus* stam die resistent is tegen oxacilline (MRSA) gecodeerd door het gen *mecA*. De detectie van Pbp2a was positief. MRSA zijn resistent tegen alle beta-lactam antibiotica met uitzondering van ceftaroline en ceftobiprole die afzonderlijk getest moeten worden indien noodzakelijk.

De bijkomende resistenties waren :

- Resistentie tegen de aminoglycosiden met uitzondering van gentamicine gecodeerd door het gen *aadC*
- Resistentie tegen tétracycline en minocycline gecodeerd door de genen *tetM* en *tetK*
- Resistentie tegen clindamycine met een verminderde gevoeligheid voor de synergistines (quinupristine/dalfopristine intermediair niet beschikbaar in België) maar met bewaarde gevoeligheid voor erythromycine (fenotype LS)
- Resistentie tegen de chinolones die de frequents geassocieerde resistentie is (71.3% van de MRSA tijdens de surveillance van de Belgische hospitalen in 2020)

De resistentie tegen sulfamethoxazole trimethoprim werd overschat door de Vitek®. Dit is een gekend probleem voor deze automaat dat ook voor BD Phoenix™ beschreven werd (Coombs and al. Sulfamethoxazole/trimethoprim resistance overcall by VITEK® 2 and BD Phoenix™ in community-associated MRSA and MSSA, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Volume 74, Issue 12, December 2019, Pages 3639–3641, <https://doi.org/10.1093/jac/dkz361>). Indien dit antibioticum noodzakelijk is, is het aangewezen de resistentie te bepalen met een andere methode zoals de diskdiffusie.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2022/2.

Tabel 1.5. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/18480 (*Staphylococcus aureus*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	S/I	S/R	I	R	Niet in routine
Flucloxacilline	R	74	-	-	--	-	74	6
Oxacilline	R	24	-	-	-	-	24	4
Cefoxitine	R	22	-	-	-	-	22	15
Trimethoprim-sulfamethoxazole	*	118	39	1	4	8	66	2
Clindamycine	R	121	-	-	-	-	121	2
Vancomycine	S	118	118	-	-	-	-	5
Teicoplanine ¹		4	4	-	-	-	-	1
Linezolid	S	112	110	-	-	-	2	41
Tetracycline	R	114	-	-	-	-	114	12
Doxycycline ²		8	1	-	-	-	7	4
Minocycline ³		11	-	-	-	-	11	2
Tigecycline ⁴		2	2	-	-	-	-	1
Erythromycine	S	121	115	-	-	-	6	4
Ciprofloxacin	R	82	-	-	-	-	82	6
Levofloxacin	R	24	-	-	-	-	24	3
Moxifloxacin	R	14	-	-	-	-	14	5
Norfloxacin	R	2	-	-	-	-	2	-
Ofloxacin	R	2	-	-	-	-	2	-

* resultaat afhankelijk van de gebruikte methode.

- ² Vier laboratoria bepaalden naast de gevoeligheid voor vancomycine ook de gevoeligheid voor teicoplanine.
- ³ Zes laboratoria bepaalden naast de gevoeligheid voor tetracycline ook de gevoeligheid voor doxycycline; 2 laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor doxycycline i.p.v. voor tetracycline.
- ⁴ Zeven laboratoria bepaalden naast de gevoeligheid voor tetracycline ook de gevoeligheid voor minocycline, 4 laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor minocycline i.p.v. voor tetracycline.
- ⁵ Eén laboratorium bepaalde naast de gevoeligheid voor tetracycline ook de gevoeligheid voor tigecycline, één laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor tigecycline i.p.v. voor tetracycline.

***Pseudomonas aeruginosa* M/18936**

Dit staal werd verstuurd om na te gaan in hoeverre de laboratoria reeds de nieuwe richtlijnen van EUCAST (meer bepaal i.v.m. de rapportage van een "I" resultaat) toepassen. Een aantal laboratoria vermeldde dan ook in de vrije tekst dat zij nog niet overgeschakeld zijn of net wel overgeschakeld zijn of dat er altijd hoge dosissen voor bepaalde antibiotica gebruikt worden in hun ziekenhuis.

Het betreft een *Pseudomonas aeruginosa* (100% correcte identificatie tot op species niveau door de laboratoria) met een « wild type » gevoeligheid (multi-gevoelig) die vooral verstuurd werd om de bekendheid met en de toepassing van de nieuwe EUCAST-richtlijnen (vanaf 2020) na te gaan. De verwachte resultaten (in geval van interpretatie volgens de nieuwe EUCAST-richtlijnen) zijn gevoeligheid aan hoge doses (« I » volgens EUCAST v2022) voor piperacilline-tazobactam, ceftazidime, cefepime, aztreonam, imipenem, ciprofloxacin/levofloxacin ; gevoeligheid aan de standaard dosis (« S » volgens EUCAST v2022) voor meropenem ; ; gevoeligheid aan de standaard dosis in associatie met andere antibiotica (« (S) » volgens EUCAST v2022) voor amikacine, tobramycine en colistine. Ter herinnering : gentamicine werd verwijderd uit de klinische interpretatie (IE) in de laatste versie van EUCAST.

Uit deze enquête blijkt dat momenteel 96% van de 121 deelnemende Belgische laboratoria de richtlijnen van EUCAST gebruiken voor de interpretatie van de gevoeligheid voor antibiotica. Van de 116 labo's die EUCAST gebruiken, verklaren 57% de recentste versies (>2019) te gebruiken. Dit percentage is bemoedigend gezien de implementatie van de nieuwe EUCAST versie uitgesteld werd tot juli 2022 zoals aanbevolen door het National Antibiogram Committee (NAC). Niettemin stellen we vast dat ¼ van de laboratoria het antwoord « S » verstrekken waar « I » verwacht werd, zelfs als een laboratorium gepreciseerd heeft dat een specifiek commentaar toegevoegd wordt bij het antwoord « S ». Wij moedigen de laboratoria eveneens aan om het resultaat "S" te maskeren van breed spectrum β -lactam antibiotica (zoals meropenem of ceftazidime-avibactam), als de stam "I" is voor β -lactam antibiotica met een beperkt spectrum (ceftazidime, cefepime, piperacilline-tazobactam) om op deze wijze te focussen op een meer gerichte therapie. Tijdens deze enquête hebben ongeveer ¼ (24%) van de laboratoria vermeld het resultaat van meropenem niet door te geven. We hopen dat dit aantal zal toenemen als deze manier van "cascade-rapportering »" (met maskering) meer toegepast wordt.

In het kader van de toepassing van deze nieuwe versie van de EUCAST-normen, herhalen wij het belang om de letter « I » te blijven gebruiken in de rapporten van de laboratoria en deze niet te vervangen door andere letters. Wij sporen de laboratoria echter aan om bijkomende commentaren toe te voegen aan de interpretatie van de antibiogrammen (betreffende de wijziging van de definitie). Dit is zeker nuttig in de overgangperiode van de wijziging. Wij verwijzen naar de officiële informatiebrief van het NAC die u werd toegestuurd (e-mail verstuurd naar de Belgische laboratoria op 4 maart 2022 door de dienst Kwaliteit van Laboratoria; eveneens beschikbaar op de pagina van het NAC op de website van de BVIKM) die ondersteuning en referenties aanbiedt over dit onderwerp.

Onderstaande tabel met de resultaten van de enquête werd gepubliceerd in het globaal rapport 2022/2.

De verwachte resultaten in deze tabel zijn gebaseerd op de EUCAST richtlijnen versie 2022.

Tabel 1.6. Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/18936 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	Niet in routine
Piperacilline-tazobactam	I	119	70	49	-	5
Ceftazidime	I	121	72	49	-	5
Cefepime	I	115	69	45	1	28
Meropenem	S	119	114	5	-	29
Imipenem ¹		4	2	1	1	1
Aztreonam	I	65	31	33	1	25
Ciprofloxacin	I	118	70	48	-	3
Levofloxacin	I	54	28	25	1	12
Tobramycine	S	64	63	1	-	17
Amikacine	S	115	114	1	-	9
Gentamicine ²		5	5	-	-	-
Colistine	S	56	54	1	1	34

¹ Vier laboratoria bepaalden naast de gevoeligheid voor meropenem ook de gevoeligheid voor imipenem.

² Drie laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor tobramycine, amikacine en gentamicine. Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor amikacine en gentamicine.

***Stenotrophomonas maltophilia* M/19114**

Deze kiem werd verstuurd om het belang van het testen van de gevoeligheid voor trimethoprim-sulfamethoxazole te bespreken (de kiem was intermediair gevoelig).

Stenotrophomonas maltophilia (SM) is een aerobe Gram negatieve bacil, glucose non-fermenter die alomtegenwoordig is in waterige omgevingen. Over het algemeen is hij weinig pathogeen in vergelijking met andere nosocomiale bacteriën, hij kan overleven op vochtige oppervlakken in de omgeving en vertoont een tropisme voor katheters, drains, endoscopen, afvoersifons en de leidingen van hemodialyse en ventilatie in een hospitaalomgeving. Zijn neiging tot het vormen van biofilms op deze biologische en inerte oppervlakken leidt tot bescherming tegen de afweermechanismen van de gastheer, de antimicrobiële behandelingen en de controlemaatregelen tegen infecties. Deze karakteristieken laten hem toe om kwetsbare gastheren, zoals patiënten met een onderliggende pulmonale pathologie (e.g. mucoviscidose) of immunodepressie (e.g. greffe van stamcellen) te koloniseren of infecteren.

SM infecties bieden dezelfde uitdagingen als opportunistische infecties door andere non-fermenters. Het is om te beginnen vaak moeilijk om te weten of SM een kolonisator dan wel een echte pathogeen vormt. Klassiek is SM een kolonisator die uitgeselecteerd wordt door multipele antibioticatherapie meer bepaald in de luchtwegen bij patiënten die lijden aan onderliggende pulmonale aandoeningen of die afhankelijk zijn van ventilatie. SM wordt vaak opgekweekt te midden van een polymicrobiële flora, hetgeen de interpretatie van zijn belang en de noodzaak aan een behandeling die focust op SM bemoeilijkt. Risicofactoren op een echte infectie met SM (meestal bij een patiënt met een belangrijke comorbiditeit) omvatten invasieve procedures als chirurgie of ventilatie en het gebruik van breed spectrum antibiotica zoals de carbapenems. Deze zelfde omstandigheden vormen eveneens risicofactoren voor een toenemende mortaliteit vooral in geval van bacteriëmie bij een immuun gedeprimeerde patiënt.

SM vertoont intrinsieke resistentiemechanismen en kan een imposant aantal resistentie mechanismen verwerven tegen antibiotica. Een metallo- β -lactamase L1 en een chromosomaal serine β -lactamase L2 maken het merendeel van de conventionele β -lactams inefficiënt tegen SM. L1 hydrolyseert de penicillines, de cefalosporines en de carbapenems, maar niet aztreonam, daar waar L2 een breed spectrum induceerbare cefalosporinase activiteit vertoont met het vermogen om aztreonam te hydrolyseren. SM bezit een intrinsieke resistentie tegen aminoglycosiden via enzymen die het acetyl-transferase wijzigen. Bovendien kan SM multidrug efflux pompen opstapelen die de activiteit verminderen van de tetracyclines, aminoglycosiden en fluorochinolonen. SM kan daarenboven verschillende resistentiegenen verwerven met name de genen *sul* et *dfrA* die leiden tot resistentie tegen SXT en de vorming van biofilmen vermindert de antimicrobiële gevoeligheid.

Antibiotica-therapie tegen SM is moeilijk. SXT waarvan de klinische activiteit het best gedocumenteerd is, vormt de eerstelijnsbehandeling, maar vereist een hoge dosis. De resistentie tegen SXT (SXT-R) bij SM blijft relatief zeldzaam (<10%) en wordt klassiek teruggevonden bij een patiënt die recent aan SXT werd blootgesteld. Bij patiënten waar SXT niet gebruikt kan worden omwille van een SXT-R van het isolaat of, frequenter, omwille van intolerantie tegen sulfamides van de patiënt, is de keuze van de behandeling problematisch. De antibiotica die vaak in combinatie gebruikt worden omvatten historisch ticarcilline-clavulaanzuur, fluorochinolonen (levofloxacin is het actiefst), minocycline, tigecycline, colistine, chloramfenicol en cefalosporines.

De gevoeligheidstesten (AST) voor SM zijn moeilijk want weinig robuust en sterk beïnvloed door de technische omstandigheden (kultuurbodem, incubatieduur en

gebruikte methoden). Deze variabiliteit wordt geïllustreerd door het testen van de aminoglycosiden waarvan de natuurlijke resistentie in vitro soms slechts vast gesteld wordt na langdurige incubatie (>48h) en op lagere temperatuur (<30°C). Waar SXT het enige agens is met gevoeligheidsdrempels bij hoge dosis (I) zoals gedefinieerd in de huidige versie van EUCAST (MIC ≤ 4 mg/L of DD ≥16 mm), heeft de CLSI de interpretatiecriteria vastgelegd voor 7 anti-SM agentia: SXT, ticarcilline-clavulaanzuur, ceftazidime, levofloxacin, minocycline, chloramfenicol en (recenter) cefiderocol. De productie van ticarcilline- clavulaanzuur werd gestopt en chloramfenicol wordt zelden gebruikt wegens zijn toxiciteit. Twee studies van eenzelfde groep hebben een eerder beperkte performantie en reproduceerbaarheid aangetoond van routine AST methoden voor ceftazidime, levofloxacin en tigecycline met categoriële concordantie (CA) niveaus van <90% of het nu diffusiemethoden, gradiënt MIC of automaten betreft. Enkel AST methoden voor SXT en minocycline (via diffusie) geven betrouwbare en reproduceerbare resultaten in vergelijking met de referentiemethode (microdilutie in bouillon). Buiten SXT blijft de interpretatie van de kritische drempels beperkt ook wegens het gebrek aan farmacokinetische-farmacodynamische gegevens en correlatiegegevens tussen de in vitro gevoeligheid en de klinische efficiëntie.

Voor de polymyxines bestaan er geen interpretatiecriteria noch van CLSI, noch van EUCAST: de AST methoden zijn zeer weinig betrouwbaar vooral vanwege een heteroresistentie (partiële inhibitie van de groei) van SM die frequent vastgesteld wordt. De polymyxines zijn trouwens niet aanbevolen voor de behandeling van een infectie door SM.

Onder de nieuwe, recent beschikbare, antibiotica, laat de combinatie van ceftazidime-avibactam (stabiel tegen het β-lactamase L2) met aztreonam (stabiel tegen het metallo-β-lactamase L1) toe iom deze enzymatische resistentie tegen de β-lactams te omzeilen. Deze synergistische activiteit die goed aangetoond wordt in vitro heeft ook in de kleine reeks van gevallen die gerapporteerd werd een klinisch succes bereikt. Deze associatie vormt momenteel een bruikbaar therapeutisch alternatief indien het gebruik van SXT uitgesloten is. Cefiderocol (cfr commentaar op de stam M18740 van de EKE 2022/1) is een ander beloftevol nieuw antibioticum voor de behandeling van infecties met multiresistente Gram negatieve kiemen waaronder SM. De eerste surveillance studies tonen een activiteit van bijna 100% tegen de SM stammen, met inbegrip van deze die resistent zijn aan de andere klassieke anti-SM middelen. In de enige gerandomiseerde klinische studie die cefiderocol geëvalueerd heeft in infecties die resistent zijn tegen carbapenems, zijn vier van de vijf patiënten die besmet waren met SM en behandeld werden met cefiderocol overleden. Deze beperkte klinische gegevens hebben de IDSA ertoe gebracht om zijn gebruik aan te raden in associatie met een ander antibioticum dat werkzaam is bij ernstige infecties.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2022/3.

Tabel 1.7.: Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/19114 (*Stenotrophomonas maltophilia*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	Niet in routine
Trimethoprim-sulfamethoxazole	I	119	31	83	5	1

Staphylococcus aureus M/19269

De kiem was drager van het PVL (Panton-Valentin Leukocidine) toxine.

Op de vraag “Bepaalt uw laboratorium het Panton-Valentine Leukocidine PVL) toxine?” antwoorden 118 laboratoria neen en 6 laboratoria ja. Veertien laboratoria geven wel aan dat de bepaling van het PVL-toxine (door een ander (referentie)laboratorium) noodzakelijk is.

Het leucocidine van Panton-Valentine (PVL) is een cytotoxisch exotoxine dat verantwoordelijk is voor vernietiging van de witte bloedcellen en voor weefselnecrose. Men kan zijn betrokkenheid vermoeden bij infecties door *S. aureus* zoals ernstige infecties of verwikkelingen (necrose van de huid of het onderhuids weefsel, diepe abscessen, etterige thromboflebitis, septische shock), necrotiserende pneumonieën en ernstige osteo-articulaire infecties (hoge koorts, pijnlijke letsels, geassocieerde sepsis). Hoewel er in Europa een verspreiding geweest is van de kloon USA300 van *S. aureus* (drager van PVL en resistent aan methicilline (MRSA)), blijft deze weinig frequent en mag het vermoeden van PVL niet beperkt blijven tot enkel de MRSA.

In geval van een ernstige infectie met vermoeden van *S. aureus* drager van PVL, wordt aangeraden een antitoxine behandeling te associëren die de productie van PVL belet zelfs bij lage MIC-waarden ter hoogte van de infectieplaats (gezien de frequente necrose de antibiotische diffusie ter hoogte van de infectie-site beperkt) naast de uitroeiing van de *S. aureus*. Geneesmiddelen die hun *in vitro* efficiëntie bewezen hebben zijn clindamycine, linezolide en rifampicine met inbegrip van associaties met beta-lactams of vancomycine. De detectie van PVL-producerende stammen berust momenteel op de moleculaire biologie. Deze wordt in routine 1 maal per week uitgevoerd door het NRC *Staphylococcus* (turn-around-time < 7 dagen) in het kader van de activiteiten binnen het budget van de NRC. Desondanks is het in geval van vermoeden van een ernstige infectie aangeraden beroep te doen op een antitoxine behandeling zelfs voor bevestiging van het dragerschap van PVL.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2022/3.

Tabel 1.8.: Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/19269 (*Staphylococcus aureus*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	Niet in routine
Oxacilline	R	108	-	-	108	2
Cefoxitine	R	101	-	-	101	57 ¹
Erythromycine	R	120	-	-	120	7
Ciprofloxacine	I	110	31	79	-	13
Levofloxacine ²		7	1	6	-	3
Moxifloxacine ²		3	3	-	-	1
Norfloxacine ²		1	1	-	-	1
Clindamycine	S	118	118	-	-	4
Gentamicine	S	110	108	-	2	25
Amikacine ³		3	1	-	2	1
Kanamycine ³		1	-	-	1	-
Tobramycine ³		3	2	-	1	1
Vancomycine	S	114	114	-	-	6
Teiplanine ⁴		7	7	-	-	2

- 1 Een groot aantal van de laboratoria die cefoxitine niet in routine zouden rapporteren, verklaren dat zij cefoxitine als marker voor oxacilline gebruiken.
- 2 Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor levofloxacin naast deze voor ciprofloxacine. Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor moxifloxacin naast deze voor ciprofloxacine. Eén laboratorium bepaalt de gevoeligheid voor levofloxacin en moxifloxacin i.p.v. ciprofloxacine. Vier laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor levofloxacin i.p.v. ciprofloxacine. Eén laboratorium bepaalt de gevoeligheid voor norfloxacine i.p.v. ciprofloxacine.
- 3 Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor amikacine en tobramycine naast deze voor gentamicine. Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor kanamycine en tobramycine naast deze voor gentamicine. Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor amikacine naast deze voor gentamicine.
- 4 Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor teicoplanine naast deze voor vancomycine

Kingella kingae M/19310

De kiem werd verstuurd om na te gaan in hoeverre de laboratoria een antibiogram voor *Kingella* uitvoeren.

Een uitgebreide bespreking hiervan kan u vinden in het globale rapport van de enquête 2022/3.

Onderstaande tabel werd gepubliceerd in het globaal rapport 2022/3.

Tabel 1.9.: Resultaten der laboratoria voor de antibiogrammen voor staal M/19310 (*Kingella kingae*).

Antibioticum	Verwachte resultaat	Totaal	S	I	R	Niet in routine
Penicilline	S	103	73	-	30	4
Amoxicilline ¹		3	3	-	-	-
Ampicilline ¹		1	-	-	1	-
Amoxicilline-clavulaanzuur		1	1	-	-	-
Cefotaxime	S	75	74	-	1	9
Ceftriaxone	S	60	58	-	2	3
Ceftazidime ²		2	2	-	-	-
Ciprofloxacine	S	97	96	-	1	5
Levofloxacine ³		8	8	-	-	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole	S	97	95	-	2	5
Meropenem	S	84	80	-	4	29

¹ Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor amoxicilline en amoxicilline-clavulaanzuur naast deze voor penicilline Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor amoxicilline naast deze voor penicilline Eén laboratorium bepaalde de gevoeligheid voor amoxicilline en ampicilline i.p.v. penicilline.

² Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor ceftazidime i.p.v. cefotaxime en ceftriaxone.

³ Twee laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor levofloxacine naast deze voor ciprofloxacine. Zes laboratoria bepaalden de gevoeligheid voor levofloxacine i.p.v. ciprofloxacine.

II. Parasitologie

Er werden in 2022 drie enquêtes voor de evaluatie van het parasitologisch onderzoek georganiseerd.

Enquête 1

Er werden 2 fecessuspensies in formol verstuurd: P/18272 en P/18846.

115 laboratoria (alle ingeschreven laboratoria) namen deel aan deze enquête.

Staal P/ 18272 bevatte cysten van *Entamoeba histolytica/dispar*. *Entamoeba histolytica/dispar* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd teruggevonden door 84 (73.0%) laboratoria. De cysten werden door 82 (97.6%) onder hen vermeld. 14 laboratoria (12.2%) antwoordden *E. histolytica*; allen vermeldden de cysten als evolutiestadium. Twee laboratoria antoorden *E. dispar*; één van beide vermeldde het evolutiestadium cyste.

Staal P/18846 bevatte eieren van *Hymenolepis nana*. *Hymenolepis nana* (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd teruggevonden door 109 (94.8%) laboratoria. De eieren werden door 102 (93.6%) onder hen vermeld.

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

Onderstaande tabel vergelijkt de resultaten bekomen tijdens deze 3 enquêtes.

Tabel 2.1. Vergelijking van de resultaten voor staal P/10183 (2014/3), P/15347 (2017/3) en P/18846 (2022/1).

P/10183 (2014/3): <i>H. nana</i> 96.1%	P/15347 (2017/3): <i>H. nana</i> 97.8%	P/18846 (2022/1) <i>H. nana</i> 94.0%
---	---	--

Het commentaar op de enquête ging nader in op de verschillende species binnen het genus *Entamoeba* (niet pathogene intestinale amoeben versus *E. histolytica/E. dispar*-complex) en hoe het onderscheid te maken (wij verwijzen naar het globale rapport van de enquête). Eveneens werd nader ingegaan op het onderscheid tussen de pathogene *E. histolytica* en, de niet-pathogene *E. dispar*: wanneer er enkel cysten teruggevonden worden, kan verdere differentiatie (nodig om pathogeen vermogen te beoordelen) enkel betrouwbaar gebeuren aan de hand van moleculaire analyse. Voor moleculaire differentiatie wordt idealiter verse, niet-gefixeerde stoelgang gebruikt. Bevestigde gevallen van invasieve amoebiase worden bij voorkeur behandeld met een nitroimidazole, gevolgd door een (luminale) behandeling met paromomycine. Bij een niet-invasieve amoebiase volstaat een behandeling met enkel paromomycine in eerste lijn.

Enquête 2

Er werden 1 stoelgangsstaal (P/19079) en 1 scotch tape test staal (P/18786) verzonden. Dit laatste werd op didactische gronden verstuurd en valt niet onder de BELAC-accreditaie.

115 laboratoria (alle ingeschreven labo's) hebben een antwoord ingegeven. Voor staal P/19079 gaven echter slechts 114 laboratoria een antwoord in.

Staal P/18786 bevatte eieren van *Taenia* species.

Taenia species werd geantwoord door 97 (84.3%) laboratoria. De eieren werden vermeld door 94 (96.9%) onder hen. Vier laboratoria antwoorden *Taenia saginata* en één laboratorium *Enterobius vermiculatis*. Twee laboratoria vermeldden dat ze het staal zouden doorsturen naar het referentiecentrum om een differentieel diagnose te stellen tussen *Taenia* species en plantensporen/pollen. 11 laboratoria antwoordden “afwezigheid van parasieten”.

Staal P/19079 bevatte eieren van *Trichuris trichiura*.

Dit staal werd reeds verstuurd werd in de EKE 2016/2 onder staalnummer P/13937.

Trichuris trichiura werd geantwoord door 102 (89.5%) laboratoria. De eieren werden vermeld door 100 (98.0%) onder hen. 10 laboratoria antwoordden “afwezigheid van parasieten”. Dit is wellicht te wijten aan het feit dat de eieren slechts in geringe concentratie aanwezig waren. In vergelijking met 2016 stellen we echter een duidelijke vooruitgang vast: waar in 2016 15.3% van de laboratoria “afwezigheid” antwoordden, bedroeg dit aantal in 2022 slechts 8.90%

Het commentaar op de enquête besprak het principe van de scotch tape test. Opmerkelijk aan dit preparaat was dat het een scotch (cellofaan) tape of plakbandpreparaat betrof waarin de *Taenia* eieren werden teruggevonden. Een plakbandpreparaat wordt vaak gebruikt als dé methode voor opsporen van *Enterobius vermicularis* gezien dit gevoeliger is dan fecesonderzoek. *Taenia* eieren kunnen als toevallige vondst voorkomen in deze preparaten. Meestal betreft het *Taenia saginata* eieren, hoewel dit o.b.v. morfologie niet kan bevestigd worden. De graviede proglottiden kunnen zich spontaan doorheen de anale sfincter bewegen en tegelijkertijd eieren uitscheiden in de peri-anale regio. Dit komt bij *Taenia solium* veel minder voor.

Het is steeds belangrijk om deze preparaten op een correcte wijze te maken. Er moet gebruik gemaakt worden van doorzichtige plakband waarbij men de kleverige zijde tegen de perianale huid aanbrengt. Dit kan door de plakband rondom een buisje of houten spatel te wikkelen. Het beste moment om dit uit te voeren is in de ochtend voor het wassen en voor defecatie (vooral voor *Enterobius*, minder van belang voor *Taenia*). Nadien wordt de plakband op een objectglasje gekleefd en bekeken met vergroting 10 x 10. Het is aangewezen om wat vloeistof aan te brengen onder de plakband om de epitheelcellen, luchtbellen en debris op te helderen en het beeld te verduidelijken. Dit kan met fysiologisch water, toluol/xylol of immersie-olie, waarbij de eerste 2 de voorkeur genieten (o.b.v. eigen ervaring). De uiteinden van de plakband moeten droog gehouden worden zodat deze nog kan vastkleven aan het glaasje.

Enquête 3

Er werden 2 bloeditstrijkjes verstuurd: P/18990 en P/19413.

139 laboratoria (op 141 ingeschreven laboratoria of 98.6%) namen deel aan deze enquête. Voor staal P/19413 hebben echter slechts 136 laboratoria een antwoord ingegeven..

Staal P/18990 bevatte trofozoïeten van *Plasmodium malariae*. In een aantal preparaten konden ook schizonten en gametocyten teruggevonden worden.

Plasmodium malariae (alleen of in combinatie met andere parasieten) werd teruggevonden door 92 (66.2%) laboratoria. 89 (96.7%) onder hen vermeldden de aanwezigheid van trofozoïeten, 62 (67.4%) de aanwezigheid van schizonten en 19 (20.7%) de aanwezigheid van gametocyten.

35 laboratoria (25.2%) vermeldden de aanwezigheid van *Plasmodium non-falciparum* 34 (97.1%) onder hen vermeldden de aanwezigheid van trofozoïeten, 22 (62.9%) de aanwezigheid van schizonten en 9 (25.7%) de aanwezigheid van gametocyten.

Staal P/19413 was negatief en bevatte dus geen parasieten.

134 (98.5%) laboratoria antwoordden “afwezigheid van parasieten”.

De voornaamste morfologische kenmerken van een *P. malariae* zijn de trofozoïeten met compact cytoplasma en de aanwezigheid van donkerbruin pigment. Typerend kenmerk voor *P. malariae* is de brede bandvorm van de oudere trofozoïeten, deze zijn echter eerder zeldzaam. De geïnfecteerde rode bloedcellen zijn normaal of klein van vorm. *P. malariae* heeft een voorkeur is om de rijpere/oudere rode bloedcellen te infecteren (McKenzie F.E, et al. J. Parasitol, 2002). Er zijn geen Maurer vlekken (*P. falciparum*) of Schuffnerse stippeling (*P. vivax/P. ovale*) aanwezig in de cellen.

Minder dan de helft van de laboratoria (44.0%) heeft schizonten gezien in dit preparaat en slechts 13.5% heeft de gametocyten gerapporteerd. Een schizont bestaat uit 6 à 12 merozoïeten (meestal 8), waarbij een rozet vorm een typerend kenmerk is voor *P. malariae*. In de schizont is het donkerbruine pigment vaak centraal gelegen. De gametocyten zijn compact van vorm en soms moeilijk te onderscheiden van de oudere trofozoïeten. De gametocyten vullen de volledige rode bloedcel en het grof bruine pigment ligt verspreid over de gametocyt. De chromatinekorrel kan goed afgelijnd zijn (meestal bij macrogametocyten) of eerder diffuus (microgametocyten).

III. Infectieuze serologie

In 2021 werden serologische parameters voor syfilis, Borrelia, CMV, EBV, Toxoplasma, hepatitis A en HIV geëvalueerd. Het aantal deelnemers varieerde afhankelijk van de geëvalueerde parameter.

Tevens werden er 2 enquêtes georganiseerd voor de COVID-19 serologie (parameter niet onder accreditatie).

Syfilis

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

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

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

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

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

De verwachte resultaten waren:

IS/18099:

Treponemale testen: positief

Niet treponemale testen: negatief

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

IS/18095:

Treponemale testen: positief

Niet treponemale testen: positief

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

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

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

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

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

19 laboratoria voerden 1 test uit, 67 laboratoria voerden 2 testen uit, 36 laboratoria 3 testen, 4 laboratoria 4 testen en 2 laboratoria 5 testen.

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

Tabel 3.1. Overzicht van het type en combinaties van de gebruikte testen (aantal laboratoria).

Aantal testen	Type test	IS/18099	IS/18095
1 test uitgevoerd	1 x treponemaal	19	19
2 testen uitgevoerd	1 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	63	64
	2 x treponemaal	3	3
3 testen uitgevoerd	2 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	38	36
4 testen uitgevoerd	3 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	3	4
5 testen uitgevoerd	4 x treponemaal + 1 x niet-treponemaal	2	2
Totaal		128	128

Tabel 3.2. Samenvatting van het type en combinaties van de gebruikte testen (aantal laboratoria).

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

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- Niet treponemale testen: RPR Carbon (Spinreact) (20.8% beide stalen), Macro-Vue RPR Card Test (Becton Dickinson) (17.9%, beide stalen), Carbogen (RPR Card Test) (Tulip Diagnostics) (13.2%, beide stalen) en RPR100 (BioRad) (11.3%, beide stalen)
- Treponemale testen: Serodia TPPA (Fujirebio) (20.4% en 19.9%), Liaison Treponema Screen (DiaSorin) (16.6%, beide stalen), Elecsys syphilis (Roche) (13.8%, beide stalen) en Architect Syphilis TP (Abbott) (9.9%, beide stalen)

Analytische resultaten voor staal IS/18099

- Niet treponemale testen: 103 (97.2%) laboratoria bekwamen een negatief resultaat, 2 een positief en 1 een borderline
- Treponemale, testen, "totale" antistoffen: 127 (99.2%) laboratoria bekwamen een positief resultaat en 1 een negatief.
- Treponemale, testen, IgG: 6 laboratoria bekwamen een positief resultaat en 2 een borderline
- Treponemale, testen, IgM: 3 laboratoria bekwamen een negatief resultaat en 1 een borderline

Interpretaties voor staal IS/18099:

- 87 (66.7%) laboratoria: Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een laat stadium van infectie, doorgemaakte of behandelde syfilis. Te toetsen aan dossier, voorgaande therapie en kliniek.
- 15 (11.9%) laboratoria: Aanwezigheid van antilichamen compatibel met een erg vroege infectie van 1 à 3 weken voordien. Te toetsen aan dossier, voorgaande therapie en kliniek
- 16 (12.7%) laboratoria vermeldden dat de antistoffen positief waren en gaven een eigen interpretatie, gebaseerd op dit resultaat
- 10 (7.9%) laboratoria vermeldden dat ze enkel treponemale testen uitvoeren en dus geen interpretatie kunnen geven
- 1 laboratorium: Geen antilichamen detecteerbaar

Analytische resultaten voor staal IS/18095

- Niet treponemale testen: 104 (98.1%) laboratoria bekwamen een positief resultaat, 2 een negatief
- Treponemale, testen, "totale" antistoffen: alle laboratoria bekwamen een positief resultaat.
- Treponemale, testen, IgG: alle laboratoria bekwamen een positief resultaat
- Treponemale, testen, IgM: 1 laboratorium bekwam een negatief resultaat, 1 een positief en 2 een borderline

Interpretaties voor staal IS/18095:

- 79 (62.7%) laboratoria: Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een re-infectie. Behandeling aangewezen.
- 19 (15.1%) laboratoria: Aanwezigheid van antilichamen suggestief voor een primaire infectie. Behandeling aangewezen
- 18 (14.3%) laboratoria vermeldden dat de antistoffen positief waren en gaven een eigen interpretatie, gebaseerd op dit resultaat
- 10 (7.9%) laboratoria vermeldden dat ze enkel treponemale testen uitvoeren en dus geen interpretatie kunnen geven

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

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

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

Gebruikte algoritmes voor syfilis-diagnose

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

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

de NTT (negatief resultaat), dient de initiële TT geconfirmeerd te worden met een tweede TT. Het gebruik van een tweede TT kan men laten afhangen van de symptomen van de patiënt, de voorgeschiedenis, de ratio van de eerste TT (vals positieven hebben vaak lagere ratio's).

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

Uit deze rondvraag bij Belgische laboratoria blijkt dat geen enkel laboratorium het traditioneel algoritme volgt en start met een NTT. Ongeveer de helft van de labo's hanteert een volledig afgewerkt reverse algoritme. Een bijkomende 10% hanteert ook het reverse algoritme maar confirmeert niet met een 2^{de} TT in geval van discordantie tussen de 1^{ste} TT en NTT. Ongeveer 15% voert steeds een TT en NTT uit en 23% voert uit wat de arts heeft aangevraagd. Bij deze 3 laatste groepen bestaat het risico dat een positieve TT en negatieve NTT combinatie mogelijk vals positief is, zeker in een lage prevalentie setting. Dit heeft onnodige gevolgen naar behandeling en opvolging van de patiënt. **Een tweede TT in dit geval ter confirmatie is noodzakelijk.** Zwakke, vals positieve ratio's in de initiële TT kunnen ook in opvolgstalen aanwezig blijven, dus ook een opvolgstaal biedt hier geen oplossing voor. Wanneer twee TT gebruikt worden in het algoritme is het aangewezen om te starten met de meest gevoelige en minst specifieke, bijvoorbeeld een geautomatiseerde EIA/CLIA/ELISA. Deze assays omvatten vaak één of meerdere recombinante antigenen (vb. Tp15, Tp17, Tp47) die zeer gevoelig zijn. Sommige van deze antigenen kunnen echter wel kruisreacties vertonen (3). Als tweede (confirmatie-) test worden specifiekere testen aangeraden zoals de *Treponema pallidum* Particle Agglutination test (TPPA) of de *Treponema pallidum* Haemagglutination test (TPHA) (1). Confirmeren met een sneltest of een geautomatiseerde assay met gelijkaardige of lagere specificiteit is weinig zinvol en afgeraden.

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

Borrelia

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

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

Staal S/5664

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

Staal IS/18777

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

De verwachte resultaten waren:

S/5664:

IgG negatief

IgM negatief

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

IS/18777, pare labo's:

IgG negatief

IgM negatief

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

IS/18777, onpare labo's:

IgG positief

IgM negatief

Interpretatie: Het serologisch resultaat past bij een vroeger doorgemaakte infectie.

113 laboratoria (alle ingeschreven labo's) hebben een antwoord ingegeven.

Ze voerden 234 testen uit op staal S/5664. De 72 pare laboratoria voerden 151 testen uit op staal IS/18777 en de 41 onpare laboratoria 86 testen.

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

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

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

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

Tabel 3.3. Verdeling der gebruikte testen in functie van de techniek voor bepaling van anti-Borrelia antistoffen, enquête 2022/1.

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

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

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- totale antistoffen: Borrelia Lyme Screen ELISA (IgGM (Euroimmun) (66.7% in alle 3 de stalen)
- IgG, non-blot: Liaison Borrelia IgG (Diasorin) (55.1% (S/5664), 52.2% (pare labo's) en 57.5% (onpare labo's)) en VIDAS Lyme IgG (bioMérieux) (29.0% (S/5664), 29.0% (pare labo's) en 32.5% (onpare labo's))
- IgM, non-blot: Liaison Borrelia IgM II (Diasorin) (51.4% (S/5664), 49.3% (pare labo's) en 55.3% (onpare labo's)) en VIDAS Lyme (IgM) (bioMérieux) (28.0% (S/5664), 29.0% (pare labo's) en 26.3% (onpare labo's))

Analytische resultaten voor staal S/5664

- Totale AS: alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat
- IgG: alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat, ongeacht de aard van de techniek (blot of niet blot)
- IgM: alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat, ongeacht de aard van de techniek (blot of niet blot)

Interpretatie voor staal S/5664

- 82 (72.6%) laboratoria: Afwezigheid van Borrelia antistoffen. Bij een vroege infectie zijn er mogelijks nog geen antistoffen gevormd. Een follow-up staal na 2 à 4 weken kan aangewezen zijn indien klinisch relevant.
- 30 (26.5%) laboratoria: Negatieve Borrelia serologie
- 1 laboratorium: Het serologisch resultaat is onbeslist, indien klinisch verdacht is een opvolgstaal aangewezen

Analytische resultaten voor staal IS/18777, pare labo's

- Totale AS: alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat

- IgG: voor de niet-blot bepalingen bekwamen 68 laboratoria een negatief resultaat en 1 een positief; voor de blot bepalingen bekwamen alle laboratoria een negatief resultaat
- IgM: alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat, ongeacht de aard van de techniek (blot of niet blot)

Interpretatie voor staal IS/18777, pare labo's

- 54 (75.0%) laboratoria: Afwezigheid van Borrelia antistoffen. Bij een vroege infectie zijn er mogelijk nog geen antistoffen gevormd. Een follow-up staal na 2 à 4 weken kan aangewezen zijn indien klinisch relevant.
- 15 (20.8%) laboratoria: Negatieve Borrelia serologie
- 2 laboratoria: Het serologisch resultaat is onbeslist, indien klinisch verdacht is een opvolgstaal aangewezen
- 1 laboratorium: Het serologisch resultaat duidt op een recente infectie, passend bij de klinische info

Analytische resultaten voor staal IS/18777, onpare labo's

- Totale AS: alle laboratoria bekwamen een positief resultaat
- IgG: alle laboratoria bekwamen een positief resultaat, ongeacht de aard van de techniek (blot of niet blot)
- IgM: de resultaten van de blotbepalingen waren allen negatief; resultaten van de niet-blot bepalingen: 27 negatief, 9 positief en 1 borderline. Alle "niet-negatieve" resultaten werden bekomen met de kit VIDAS Lyme IgM.

Na contactname bezorgde de firma ons de volgende verklaring:

- Hypothesis for this sample is a non-specific binding Specificity is < 100%
Moreover as reminder on the package insert:
 - Antibody detection methods do not provide definitive results for establishing or ruling out diagnosis of Lyme Borreliosis.
 - Positive results with the VIDAS® Lyme IgG and IgM assays must be interpreted with caution. Cross-reactivity may be observed with certain diseases (13, 14): refer to section "Cross-reactivity".
 - Clinical symptoms, epidemiological information and other laboratory test results must all be considered when interpreting VIDAS® Lyme IgM and IgG assay results.
 - Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components or substances that affect the reaction. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed.
 - Testing should be done only when exposure history, epidemiology and clinical symptoms suggest Lyme disease.

Interpretatie voor staal IS/18777, onpare labo's

- 17 (14.5%) laboratoria: Het serologisch resultaat past bij een vroeger doorgemaakte infectie.
- 4 (9.8%) laboratoria gaven een eigen variant van de voorgaande interpretatie
- 15 (36.6%) laboratoria: Het serologisch resultaat duidt op een recente infectie, passend bij de klinische info
- 2 laboratoria gaven een eigen variant van de voorgaande interpretatie

- 2 laboratoria vermeldden de noodzaak van een blotbepaling
- 1 laboratorium: Het serologisch resultaat is onbeslist, indien klinisch verdacht is een opvolgstaal aangewezen

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

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

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

Borrelia burgdorferi is zoals gekend een spirocheet die via tekenbeten humane infecties kan veroorzaken. In afwezigheid van de typische klinische symptomen waaronder erythema migrans berust de diagnose van Lyme-gerelateerde ziektebeelden grotendeels op het aantonen van specifieke antistoffen. De huidige teststrategie berust in de meeste gevallen op een tweestapsalgoritme: enerzijds het traditionele algoritme waarbij een (gevoelige) enzymimmunoassay (EIA) of een immunofluorescentieassay (IFA), igv twijfelachtig of positief resultaat, wordt gevolgd door een (meer specifieke) Western Blot (IgM en/of IgG), en anderzijds een minder

vaak gebruikt protocol waarbij 2 opeenvolgende EIA's worden ingezet. In Europa wordt meestal gekozen voor het traditionele protocol, het alternatieve wordt voornamelijk in de VS gebruikt. Daarnaast is er in de literatuur melding van een eenstapsprotocol met een C6 peptide ELISA, waarbij een even hoge gevoeligheid(?), maar iets lagere specificiteit t.o.v. het tweestapsprotocol wordt beschreven. Gezien de verschillende epidemiologische situatie in de VS mogen we niet zomaar dezelfde conclusies te trekken voor Europa, immers daar waar er in de VS vnl. *B. burgdorferi sensu stricto* circuleert zien we in Europa hoofdzakelijk *B. afzelli* en *B. garinii* en slechts in een minderheid *B. burgdorferi sensu stricto*. Dit maakt het extrapoleren van teststrategieën moeilijk. Bovendien adviseert de CDC ook op dit moment nog een tweestapsalgoritme, dit blijft voorlopig ook onze aanbeveling.

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

CMV

Er werden 2 stalen (IS/16641 en IS/16660) rondgestuurd voor bepaling van de antistoffen tegen CMV en EBV.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

IS/16641: 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.

IS/16660: een patiënt onder chemotherapie vertoont symptomen van een griepaal syndroom. Hij heeft recent bezoek gehad van jongere familieleden die nadien positief testen voor CMV en/of EBV antistoffen. Derhalve wordt een staal afgenomen bij de patiënt.

De verwachte resultaten voor CMV waren:

IS/16641: IgG positief
IgM negatief
IS/16660: IgG negatief
IgM negatief

De interpretatie omvatten een gecombineerde interpretatie van CMV en EBV.

129 laboratoria (op 130 ingeschrevenen, of 99%) hebben hun resultaten voor CMV ingevuld.

Op staal IS/16641 voerden de laboratoria 309 testen uit (1 bepaling van de totale As, 139 IgG, 136 IgM en 33 aviditeitsbepalingen).

Op staal IS/16660 voerden de laboratoria 280 testen uit (1 bepaling van de totale AS, 138 IgG, 136 IgM en 5 aviditeitsbepalingen).

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

Tabel 3.4. Aantal deelnemers verdeeld per uitgevoerde parameters voor CMV 2022/2

Aantal testen	Type test	IS/16641	IS/16660
1 test	IgG	2	2
	totale AS	1	1
2 testen	IgG + IgM	90	111
3 testen	IgG + IgM + aviditeit	25	5
	IgG + IgG + IgM	1	-
	IgG + IgM + IgM	-	1
4 testen	IgG + IgM + IgM + aviditeit	1	-
	IgG + IgG + IgM + IgM	1	8
5 testen	IgG + IgG + IgM + IgM + aviditeit	7	-
	IgG + IgG + IgG + IgM + IgM	1	1
Totaal		129	129

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- IgG: Cobas CMV IgG (Roche) (23.0% en 23.2%), Liaison CMV IgG II (DiaSorini,) (20.1% en 20.3%), Architect CMV IgG (Abbott) (15.1% en 15.2%),

- ElecsysCMV IgG (Roche) (12.9% en 13.0%), Alinity CMV IgG (Abbott) (9.4%, beide stalen) en VIDAS CMV IgG (bioMérieux) (8.6% en 8.0%)
- IgM: Cobas CMV IgM (Roche) (23.5%, beide stalen), Liaison CMV IgM II (DiaSorini,) (20.6%, beide stalen), Architect CMV IgM (Abbott) (15.4%, beide stalen), Elecsys CMV IgM (Roche) (11.8%, beide stalen), Alinity CMV IgM (Abbott) (8.8%, beide stalen) en VIDAS CMV IgM (bioMérieux) (8.8%, beide stalen)
 - IgG aviditeit (enkel voor staal IS/16641): VIDAS CMV IgG avidity (bioMérieux) (63.6%), en Liaison CMV IgG avidity (DiaSorini) (21.2%)

De resultaten kunnen als volgt samengevat worden:

IS/16641:

- het laboratorium dat de totale antistoffen bepaalde, bekwam een positief resultaat
- 127 laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de IgG; één laboratorium bekwam een negatief resultaat (mogelijk heeft dit labo het verkeerde vakje aangekruist in de toolkit: de kwantitatieve waarde wijst op een positief resultaat).
- alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de IgM
- alle laboratoria bekwamen een hoge aviditeit

IS/16660:

- het laboratorium dat de totale antistoffen bepaalde, bekwam een negatief resultaat
- alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de IgG
- alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de IgM

EBV

Op dezelfde stalen waarop de CMV serologie uitgevoerd werd (cfr. het hoofdstuk betreffende CMV), dienden eveneens de anti-EBV antistoffen bepaald te worden.

123 laboratoria hebben resultaten ingegeven. Voor staal IS/16660 hebben echter slechts 122 laboratoria resultaten ingegeven (eigenaardig genoeg gaf het ontbrekende laboratorium wel een gecombineerde interpretatie voor CMV en EBV voor dit staal: wellicht betreft het een vergetelheid bij het ingeven van de resultaten).

Op staal IS/16641 voerden de laboratoria 359 testen uit (50 heterofiele As, 11 totale IgM, 95 VCA IgG, 13 VCA-EA IgG, 105 VCA IgM, 79 EBNA IgG en 6 EA IgG)..

Op staal IS/16660 voerden de laboratoria 353 testen uit (49 heterofiele As, 11 totale IgM, 94 VCA IgG, 12 VCA-EA IgG, 103 VCA IgM, 78 EBNA IgG en 6 EA IgG).

De VIDAS VCA-EA IgG geeft een globale appreciatie van deze beide parameters zonder een onderscheid toe te laten.

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

Tabel 3.4. Combinaties van testen uitgevoerd door de deelnemers voor EBV (EKE 2022/2)

Aantal testen	Parameter	IS/16641	IS/16660
1 test	Heterofiele AS	3	3
	EBNA IgG	4	5
2 testen	VCA IgG + VCA IgM	24	24
	VCA-EA IgG + VCA IgM	2	2
	VCA IgG + Totale IgM	1	1
	EBNA IgG + VCA IgM	2	2
3 testen	Heterofiele AS + VCA IgG + VCA IgM	11	11
	Heterofiele AS + VCA-EA IgG + VCA IgM	1	1
	Heterofiele AS + VCA IgG + Totale IgM	2	2
	Heterofiele AS + EBNA IgG + VCA IgM	6	6
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	26	26
	VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	7	6
	VCA IgG + Totale IgM + EBNA IgG	5	5
4 testen	Heterofiele AS + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	18	17
	Heterofiele AS + VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	3	3
	Heterofiele AS + VCA IgG + Totale IgM + EBNA IgG	2	2
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	1	1
	VCA IgG + totale IgM + EBNA IgG + EA IgG	1	1
5 testen	Heterofiele AS + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	4	4
Totaal		123	122

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- Heterofiele As: Clearview IM (Abbott) (82.0% en 83.7%)
- VCA-EA IgG: VIDAS EBV VCA-EA IgG (bioMérieux) (100%, beide stalen)
- VCA IgG: Liaison VCA IgG (DiaSorin) (50.5% en 50.0%), Architect VCA IgG (Abbott) (16.8% en 17.0%), Alinity i EBV-VCA IgG (Abbott) (10.5% en 10.6%) en Elecsys EBV VCA IgG (Roche) (9.5% en 9.6%)
- EBNA IgG: Liaison EBNA IgG (DiaSorin) (30.4% en 29.5%), VIDAS EBV EBNA IgG (bioMérieux) (21.5% en 21.8%) en Architect EBNA IgG (Abbott) (20.3% en 20.5%)
- EA IgG: Liaison EA IgG (DiaSorin) (83.3%, beide stalen)
- Totale IgM: Elecsys EBV IgM (Roche) (81.8%, beide stalen)

- VCA IgM: Liaison EBV IgM (DiaSorin) (47.6%, beide stalen), Architect VCA IgM (Abbott) (16.2% en 16.5%), VIDAS EBV VCA IgM (bioMérieux) (15.2% en 14.6%) en Alinity i EBV-VCA IgM (Abbott) (10.5% en 10.7%)

IS/16641

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de heterofiele As.

Alle resultaten voor de VCA IgG en VCA-EA waren positief. Alle resultaten voor de EA-IgG waren negatief. Voor de IgG EBNA IgG bekwamen 58.2% van de laboratoria een positief resultaat, 34.2% een negatief en 7.6% een borderline.

Alle resultaten voor de totale IgM en de VCA IgM waren negatief

IS/16660

48 laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de heterofiele As; één laboratorium bekwam een borderline resultaat.

Voor de VCA IgG bekwamen 93 laboratoria een positief resultaat en 1 laboratorium een negatief resultaat. Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat voor de VCA-EA IgG en de EBNA IgG. De resultaten voor de EA IgG waren allen negatief.

Alle resultaten voor de totale IgM waren negatief. Voor de VCA IgM bekwamen 102 laboratoria een negatief resultaat en 1 laboratorium een borderline.

Interpretatie van CMV en EBV

IS/16641

Laboratoria die enkel CMV uitvoeren (N =7)

Vijf laboratoria antwoordden “Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte CMV infectie”. Eén laboratorium (dat de totale As (resultaat positief) bepaalde) koos voor “Globale CMV test. Oude of primaire infectie”. Eén laboratorium (dat enkel de IgG (resultaat positief) bepaalde) opteerde voor “Wij zijn een transfusiecentrum en voeren enkel CMV IgG uit”.

Laboratoria die enkel EBV uitvoeren (N =2)

Het ene laboratorium koos voor “Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte EBV-infectie”. Het andere (dat enkel de heterofiel As (resultaat negatief) bepaalde) koos voor “Geen interpretatie mogelijk op basis van enkel P&B, verdere serologische testen nodig”.

Laboratoria die EBV en CMV uitvoeren (N =119)

110 (75.8%) laboratoria kozen voor “Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte CMV infectie en voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie”. Drie laboratoria kozen voor “Serologie suggestief voor een EBV primo infectie en voor een vroeger doorgemaakte CMV infectie”, twee laboratoria voor “Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte CMV infectie; negatieve EBV serologie” en één laboratorium voor “Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie; negatieve CMV serologie (ondanks positieve CMV IgG). Drie laboratoria stelden een eigen (uitgebreide) interpretatie voor.

IS/16660

Laboratoria die enkel CMV uitvoeren (N =7)

Vijf laboratoria antwoordden “Negatieve CMV serologie¹”. Eén laboratorium (dat de totale As (resultaat positief) bepaalde) koos voor “Globale CMV test. Oude of primaire infectie”. Eén laboratorium (dat enkel de IgG (resultaat negatief) bepaalde) opteerde voor “Wij zijn een transfusiecentrum en voeren enkel CMV IgG uit”.

Laboratoria die enkel EBV uitvoeren (N =2)

Het ene laboratorium koos voor “Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte EBV-infectie”. Het andere (dat enkel de heterofiel As (resultaat negatief) bepaalde) koos voor “Geen interpretatie mogelijk op basis van enkel P&B, verdere serologische testen nodig”.

Laboratoria die EBV en CMV uitvoeren (N =117)

114 (97.4%) laboratoria kozen voor de interpretatie “Serologie suggestief voor een vroeger doorgemaakte EBV infectie; negatieve CMV serologie”. Drie laboratoria opeerden voor een andere interpretatie.

Toxoplasma

Er werden 2 stalen rondgestuurd voor Toxoplasma-serologie: IS/19049 en IS/19050. Staal IS/19050 werd reeds verstuurd in de EKE 2021/1 onder staalnummer IS/IS/17478 en in de EKE 2012/1 onder staalnummer IS/10550

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

IS/19049: Een dame van 47 jaar klaagt sinds 1 maand van vermoeidheid en vertoont duidelijke cervicale klieren. Ze heeft geen katten in huis maar werkt wel geregeld in de tuin.

IS/19050: Afname bij een 25-jarige tuinarchitecte met zwangerschapswens.

De verwachte resultaten waren:

IS/19049:

IgG positief

IgM negatief

Interpretatie: Aanwezigheid van antistoffen suggestief voor een oud contact (beschermende antilichamen)

IS/19050:

IgG negatief

IgM negatief

Interpretatie: Afwezigheid van specifieke antistoffen

In het totaal hebben 126 laboratoria deelgenomen.

Op staal IS/19049 voerden de laboratoria 305 testen uit: 94 laboratoria voerden 2 testen uit, 20 laboratoria 3 testen, 4 laboratoria 4 testen, 7 laboratoria 5 testen en 1 laboratorium 6 testen.

Op staal IS/19050 voerden de laboratoria 279 testen uit: 110 laboratoria voerden 2 testen uit, 6 laboratoria 3 testen, 9 laboratoria 4 testen en 1 laboratorium 5 testen.

Onderstaande tabel geeft een overzicht van de uitgevoerde testen per staal per aantal laboratoria.

Tabel 3.5. Aantal deelnemers verdeeld per uitgevoerde parameters voor Toxoplasma (EKE 2022/2).

Aantal testen	Type test	IS/19049	IS/19050
2 testen	IgG + IgM	94	110
3 testen	IgG + IgM + aviditeit	20	5
	IgG + 2 IgM	-	1
4 testen	2 IgG + 2 IgM	1	8
	3 IgG + IgM	1	1
	2 IgG + IgM + aviditeit	1	-
	IgG + 2 IgM + aviditeit	1	-
5 testen	2 IgG + 2 IgM + aviditeit	7	-
	2 IgG + 2 IgM + IgA	-	1
6 testen	2 IgG + 2 IgM + IgA + aviditeit	1	-
Totaal		126	126

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- IgG: Cobas Toxo IgG (Roche) (20.3% en 20.4%), Elecsys Toxo IgG (Roche) (15.2% en 15.3%), Liaison Toxo IgG II (DiaSorin) (15.2% en 15.3%), Architect Toxo IgG (Abbott) (12.3% en 11.7%), en Alinity Toxo IgG (Abbott) (10.1% en 10.9%)
- IgM: Cobas Toxo IgM (Roche) (19.9%, beide stalen), Elecsys Toxo IgM (Roche) (15.4%, beide stalen), Liaison Toxo IgM (DiaSorin) (13.2%, beide stalen), Architect Toxo IgM (Abbott) (12.5% en 11.8%), en Alinity Toxo IgM (Abbott) (10.3% en 11.0%)
- IgG aviditeit (enkel staal IS/17690): VIDAS Toxo IgG avidity (bioMérieux) (56.7%) en Liaison XL Toxo IgG avidity II (DiaSorin) (26.7%)

Voor staal IS/19049 bekwamen alle laboratoria een positief resultaat voor de IgG.

Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de IgM en de IgA.

Alle laboratoria bekwamen een hoog resultaat voor de aviditeit.

125 (99.2%) laboratoria gaven de interpretatie "Aanwezigheid van antistoffen suggestief voor een oud contact (beschermende antilichamen)". Eén laboratorium gaf een eigen interpretatie.

De analyse van beide stalen leverde geen analytische problemen op, maar bij de interpretatie zijn toch enkele kanttekeningen te maken. Zo zijn er een aantal laboratoria die een resultaat geven voor een aviditeitsbepaling bij staal IS/19050 terwijl dit staal zowel voor Toxoplasma IgG als IgM negatief test. Deze laboratoria zouden best verifiëren of hun methode effectief een resultaat genereert bij afwezige IgG.

Het toont ook het belang aan om de verschillende serologische parameters samen te beoordelen.

Uit de nadien gegeven interpretatie (afwezigheid van specifieke antilichamen), zou men kunnen afleiden dat het om een foute resultateninput gaat.

Gelukkig geven de meeste laboratoria aan dat ze de aviditeitsbepaling niet in routine zouden uitvoeren.

Hepatitis A

Er werden 2 stalen rondgestuurd: IS/19224 en IS/19302.

De stalen waren vergezeld van volgende klinische inlichtingen:

IS/19224 en IS/19302: Beide stalen zijn afgenomen bij volwassen patiënten met klinische symptomen (koorts, geelzucht) en laboratoriumresultaten (verhoogde bilirubine en transaminasen) kenmerkend voor hepatitis. Geen van beide patiënten heeft de laatste jaren in het buitenland verbleven.

De verwachte resultaten en interpretaties waren:

IS/19224:

IgG: positief
IgM: negatief
Interpretatie: Immuniteit

IS/19302:

IgG: negatief
IgM: negatief
Interpretatie: Immuniteit

In het totaal vulden 130 klinische laboratoria (op 131 ingeschreven laboratoria of 99.2%) een antwoord in.

Op beide stalen voerden de laboratoria 251 testen uit.

9 laboratoria voerden laboratoria 1 test uit en 121 laboratoria 2 testen.

Onderstaande tabel geeft de uitgevoerde parameters per laboratorium weer

Tabel 3.6. Aantal deelnemers verdeeld per uitgevoerde parameters

Aantal testen	Type test	IS/19224	IS/19302
1 test	IgM	8	8
	Totale As	1	1
2 testen	Totale As + IgM	91	91
	IgG + IgM	30	30
Totaal		130	130

Er werden dus in totaal 92 bepalingen van de totale As uitgevoerd, 30 bepalingen van de IgG en 129 van de IgM.

De meest gebruikte kits voor de verschillende parameters waren:

- IgG: Architect HAV IgG (Abbott) (56.7% beide stalen) en Alinity i HAVAb IgG (Abbott) (43.3% beide stalen)
- Totale As.: Cobas anti-HAV (Roche) (27.2%, beide stalen), Elecsys anti-HAV (Roche) (21.7% beide stalen), VIDAS anti-HAV Total (bioMérieux) (13.0% beide stalen) en Atellica HAV Total (13.0% en 12.0%)
- IgM: Cobas anti-HAV IgM (Roche) (20.9% beide stalen), Elecsys anti-HAV IgM (Roche) (14.7% beide stalen), Architect HAV IgM (Abbott) (14.0% en 13.2%) en VIDAS HAV IgM (bioMérieux) (11.6% beide stalen)

Voor staal IS/19424 vonden alle laboratoria die de IgG bepaalden deze positief. 90 laboratoria (97.8%) die de totale antistoffen bepaalden, vonden deze positief; 2 bekwamen een negatief resultaat (één van deze beiden heeft echter waarschijnlijk de beide stalen omgewisseld gezien het een positief resultaat bekwam voor staal IS/19302). 128 laboratoria die de IgM bepaalden, vonden deze negatief; één laboratorium bekwam een positief resultaat.

120 laboratoria (91.8%) gaven de correcte interpretatie "Immuniteit". Eén laboratorium antwoordde "geen mmuniteit" (dit is het laboratorium dat vermoedelijk beide stalen omwisselde) . Eén laboratorium (dat een positief resultaat bekwam voor de totale antistoffen) koos voor "Serologisch profiel suggestief voor een recente/aanwezige infectie met het hepatitis A virus" De laboratoria die enkel de IgM bepaalden, vermeldde dat er geen argumenten voor een recente infectie met het Hepatitis A virus aanwezig zijn (N =4) of dat op basis van enkel IgM er geen interpretatie mogelijk is (N = 3).

Voor staal IS/19302, vonden alle laboratoria die de IgG bepaalden deze negatief. 91 laboratoria (98.9%) die de totale antistoffen bepaalden, vonden deze negatief; 1 bekwam een positief resultaat (dit is het laboratorium dat vermoedelijk beide stalen omwisselde). Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat voor de IgM. 120 laboratoria (91.8%) gaven de correcte interpretatie "Geen immuniteit". Eén laboratorium antwoordde "mmuniteit" (dit is het laboratorium dat vermoedelijk beide stalen omwisselde) . De laboratoria die enkel de IgM bepaalden, vermeldde dat er geen argumenten voor een recente infectie met het Hepatitis A virus aanwezig zijn (N =5) of dat op basis van enkel IgM er geen interpretatie mogelijk is (N = 3).

Een uitgebreide bespreking hiervan kan u vinden in het globale rapport van de enquête 2022/3.

HIV

Er werden 2 “klaar-voor-gebruik” stalen (IS/19400 en IS/19404) verstuurd voor de bepaling van HIV-antistoffen.

De verwachte resultaten waren:

Staal IS/19400 was reactief voor HIV antistoffen.

Staal IS/19404 was negatief voor HIV antistoffen. Dit staal werd reeds verstuurd in de EKE 2015/3 (onder staalnummer IS/10557), in de EKE 2016/3 (onder staalnummer IS14254) en in de EKE 2018/3 (onder staalnummer IS/15349).

137 laboratoria (op 138 ingeschreven laboratoria of 99.3%) hebben een antwoord ingegeven.

Onderstaande tabel geeft het aantal uitgevoerde screeningstesten per staal weer. Verschillende laboratoria gebruikten 2 verschillende screeningstesten per staal; één laboratorium 3 testen.

Tabel 3.7. Screeningstesten uitgevoerd voor de bepaling van HIV.

Staal	1 test	2 testen	3 testen	Totaal
IS/19400, (N labo's)	123	13	1	137
IS/19404 (N labo's)	129	7	1	137

Er werden dus 152 screeningstesten uitgevoerd op staal IS/19400 en 146 screeningstesten op staal IS/19404.

De meest gebruikte reagentia waren Elecsys HIV Duo (Roche) (21.7% en 23.3%), HIV Combi PT (Roche) (165.4% en 17.1%), Architect HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (12.5% en 13.0%) en Alinity HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (12.5% en 13.0%).

Resultaten voor staal IS/19400

133 (97.1%) laboratoria bekwamen een reactief resultaat met de screeningstesten, 3 bekwamen een borderline resultaat en één laboratorium een negatief resultaat (dit laboratorium heeft wellicht beide stalen omgewisseld want het bekwam een reactief resultaat voor staal IS/19404).

Resultaten voor staal IS/19404

136 (99.3%) laboratoria bekwamen een negatief resultaat met de screeningstesten. Eén laboratorium bekwam een reactief resultaat (het hoger vermeldde laboratorium dat wellicht beide stalen omwisselde).

COVID-19*

* parameter niet onder accreditatie uitgevoerd

1) Enquête mei (COVID 2022/1)

Er werden 3 stalen rondgestuurd voor COVID-serologie.

Informatie betreffende de herkomst van de stalen:

IS/19117: gezonde donor zonder gedocumenteerde natuurlijke infectie, 94 dagen na derde dosis Pfizer vaccin

IS/19118: donor met positieve PCR test op 10/02/2022. De staalafname gebeurde op 23/05/2022

IS/19119: seronegatieve gezonde donor

109 klinische laboratoria hebben deelgenomen aan de enquête: ze voerden op elk van de 3 stalen 146 testen uit.

75 laboratoria voerden 1 test uit, 29 laboratoria voerden 2 testen uit, 3 laboratoria 3 testen en 1 laboratorium 4 testen.

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

Tabel 3.8: Verdeling der gebruikte testen in functie van de techniek voor bepaling van anti-COVID antistoffen, enquête 2022/1.

N testen	As	N labo's (elk van de 3 stalen)	
1 test	Totale As	30	
		anti-S-antistoffen	28
		anti-N antistoffen	2
	IgG		45
		anti-S-antistoffen	42
		anti-N antistoffen	3
2 testen	Totale: anti-N antistoffen en IgG: anti-S antistoffen	2	
	Totale As (anti-S-antistoffen) en IgM	1	
	IgG (anti-S-antistoffen) en IgM	4	
	2 x Totale As (anti-S-antistoffen en anti-N antistoffen)	14	
	2 x IgG (anti-S-antistoffen en anti-N antistoffen)	8	
3 testen	Totale As. en IgG en IgM	3	
		totale anti-S-antistoffen en IgG & IgM sneltesten	2
		totale anti-N antistoffen en IgG anti-S-antistoffen	1
4 testen	Totale anti-N en anti-S antistoffen en IgG & IgM sneltesten	1	
Totaal		108	

In totaal voerden de laboratoria dus uit:

- 66 bepalingen van de totale antistoffen: 46 anti-S en 20 anti-N
- 71 bepalingen van de IgG: 57 anti-S, 11 anti-N en 3 sneltesten
- 9 bepalingen van de IgM waarvan 3 sneltesten

De meest gebruikte kits waren:

- Totale As:
 - o Anti-S As: Elecsys Anti-SARS-CoV-2 S (Roche) (88.01%)
 - o Anti-N As: Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 Test (Cobas) (Roche) (100%,)
- IgG:
 - o Anti-S As: LIAISON SARS-CoV-2 TrimericS IgG (Diasorin) (33.3%), SARS-CoV-2 IgG II Quant (Alinity) (Abbott) (24.6%), en SARS-CoV-2 IgG II Quant (Architect) (Abbott) (22.8%)
 - o Anti -N As SARS-CoV-2 IgG Assay (Architect) (Abbott) (54.5%)
- IgM: geen enkele kit had meer dan 3 gebruikers

Resultaten

Staal IS/19117:

- Totale As:
 - o S-antistoffen: alle laboratoria bekwamen een positief resultaat
 - o N-antistoffen: alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat.
- IgG
 - o S-antistoffen: alle laboratoria bekwamen een positief resultaat
 - o N-antistoffen: alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat
 - o Sneltesten: één laboratorium bekwam een positief resultaat en één een negatief resultaat.
- IgM
 - o alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat.

Staal IS/19118

- Totale As: alle laboratoria bekwamen een positief resultaat, ongeacht welke antistoffen zij opsporen..
- IgG:
 - o S-antistoffen: 56 (98.2%) laboratoria bekwamen een positief resultaat één laboratorium een borderline
 - o N-antistoffen: 4 laboratoria bekwamen een positief resultaat , 4 een borderline en drie een negatief resultaat
 - o Sneltesten: alle laboratoria bekwamen een positief resultaat.
- IgM:
 - o ELISA testen: vijf laboratoria bekwamen een negatief resultaat en 2 een positief
 - o Sneltesten: alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat

Staal IS/18119

- Totale As: alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat, ongeacht welke antistoffen zij opsporen..
- IgG: alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat, ongeacht welke antistoffen zij opsporen.
- IgM: alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat

2) Enquête november (COVID 2022/2)

Er werden 3 stalen rondgestuurd voor COVID-serologie.

Informatie betreffende de herkomst van de stalen:

IS/19605: seronegatieve gezonde donor

IS/19606: donor met gedocumenteerde infectie op 01/04/20, vaccinaties op 21/01/21 (Moderna), 19/02/21 (Moderna) en 26/11/21 (Pfizer);
staalafname: 19/10/22

IS/19607: donor met gedocumenteerde infecties op 03/20 en 31/01/22, vaccinaties op 22/01/21 (Moderna), 19/02/21 (Moderna) en 26/11/21 (Pfizer);
staalafname: 19/10/22

107 Belgische en Luxemburgse klinische laboratoria hebben aan de enquête deelgenomen: laboratoria.

De klinische laboratoria voerden op elk van de 3 stalen 144 testen uit.

75 laboratoria voerden 1 test uit, 28 laboratoria voerden 2 testen uit, 3 laboratoria 3 testen en 1 laboratorium 4 testen.

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

Tabel 3.9: Verdeling der gebruikte testen in functie van de parameter voor bepaling van anti-COVID antistoffen, enquête 2022/2.

N testen	As	N labo's (elk van de 3 stalen)	
1 test	Totale As	23	
		anti-S-antistoffen	21
		anti-N antistoffen	2
	IgG		52
		anti-S-antistoffen	50
		anti-N antistoffen	2
2 testen	Totale antistoffen en IgG	4	
		totale anti-N antistoffen en IgG anti-S-antistoffen	2
		totale anti-S antistoffen en IgG anti-S-antistoffen	2
	IgG (anti-S-antistoffen) en IgM		4
	2 x Totale As (anti-S-antistoffen en anti-N antistoffen)		13
	2 x IgG (anti-S-antistoffen en anti-N antistoffen)		7
3 testen	Totale As. (anti-N) en IgG (anti-S) en IgM		1
	2 x Totale As (anti-S-antistoffen en anti-N antistoffen) en IgG (anti-S)		1
	3 x Totale As (1 x anti-S-antistoffen en 2 x anti-N antistoffen)		1
4 testen	2 x Totale As (anti-N en anti-S antistoffen) en IgG & IgM sneltesten		1
Totaal			107

De meest gebruikte kits waren:

- Totale As:
 - o Anti-S As: Elecsys Anti-SARS-CoV-2 S (Roche) (94.9%)
 - o Anti-N As: Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 Test (Cobas) (Roche) (100%,)
- IgG:

- Anti-S As: LIAISON SARS-CoV-2 TrimericS IgG (DiaSorin) (28.4%), SARS-CoV-2 IgG II Quant (Alinity) (Abbott) (23.9%), Anti-S As: SARS-CoV-2 IgG II Quant (Architect) (Abbott) (16.4%) en Atellica IM SARS-CoV-2 IgG (sCOVG) (Siemens) (13.4%)
- Anti-N As SARS-CoV-2 IgG Assay (Architect) (Abbott) (55.6%)
- IgM: geen enkele kit had meer dan 2 gebruikers

Resultaten

Staal IS/19605:

- Totale As:
 - S-antistoffen: 37 (94.9%) laboratoria bekwamen negatief resultaat en 2 (5.1%) een positief resultaat
 - N-antistoffen: alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat.
- IgG
 - S-antistoffen: alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat
 - N-antistoffen: 8 laboratoria bekwamen een negatief resultaat en 1 laboratorium een borderline resultaat
 - Sneltesten: het laboratorium bekwam een negatief resultaat.
- IgM
 - Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat, ongeacht de aard van de kit.

Staal IS/19606

- Totale As: alle laboratoria bekwamen een positief resultaat, ongeacht welke antistoffen zij opsporen.
- IgG:
 - S-antistoffen: alle laboratoria bekwamen een positief resultaat,
 - N-antistoffen: alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat
- IgM:
 - ELISA kits: 3 laboratoria bekwamen een negatief resultaat en 2 een positief resultaat
 - Sneltesten: het laboratorium bekwam een negatief resultaat

Staal IS/19607

- Totale As:
 - Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat, ongeacht welke antistoffen zij opsporen.
- IgG
 - S Alle laboratoria bekwamen een positief resultaat, ongeacht welke antistoffen zij opsporen.
- IgM
 - Alle laboratoria bekwamen een negatief resultaat, ongeacht de aard van de kit

EINDE

© Sciensano, Brussel 2023.

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