

# Jaarverslag 2015

## Sectie Parasitologie – SKML

### *Rondzending Bloed en darmparasieten*

De rondzending bloed en darmparasieten kent een jaarlijks langzaam teruglopend aantal deelnemers, omdat steeds meer laboratoria in Nederland fuseren. Toch nemen nog steeds 85 laboratoria deel aan deze rondzending, waarbij een klein aantal alleen bloedparasieten rapporteert en een nog kleiner aantal alleen darmparasieten analyseert. Uit verdiepvragen van de rondzendingen in 2013 en 2014 is gebleken dat er behoefte bestaat aan bloedmonsters voor malaria antigeentesten (sneldiagnostiek voor malaria). In 2014 heeft de sectie de haalbaarheid van het rondzenden van dergelijk materiaal onderzocht waarna in 2015 een proefrondzending voor deze materialen is uitgevoerd. Van de 85 deelnemers hebben 42 deelnemers resultaten voor malaria antigeentesten gerapporteerd. Bij de eerste ronde was het invoeren van de resultaten voor veel deelnemers moeilijk, maar bij de tweede ronde leverde dat geen problemen op. Rondzending van bloedlysaten voor malaria snel-diagnostiek m.b.v. antigeentesten blijkt daarom mogelijk, waardoor dit materiaal in 2016 als onderdeel van de rondzending bloed en darmparasieten zal worden rondgestuurd.

### *Rondzending moleculaire parasitologie*

In 2015 namen ruim 30 laboratoria deel aan de rondzending moleculaire parasitologie. In het afgelopen jaar maakten diverse buitenlandse deelnemers gebruik van de Engelstalige versie van deze rondzending. De sectie heeft in 2014 onderzocht of er behoefte bestaat aan kwaliteitscontrole rondzendingen voor moleculaire detectie van andere parasieten en wat de haalbaarheid daarvan is. Hieruit bleek dat er grote behoefte bestaat aan een rondzending voor moleculaire diagnostiek naar *Trichomonas vaginalis*, omdat dit destijds door geen enkele organisatie werd aangeboden terwijl dit onderzoek wel door veel laboratoria wordt uitgevoerd. Een eerste pilot rondzending onder de referentie laboratoria toonde aan dat deze rondzending technisch haalbaar is, waarna in 2015 een aparte proefrondzending voor moleculaire diagnostiek naar *Trichomonas vaginalis* is gestart. Ook deze proefrondzending waarna 28 laboratoria deelnamen is succesvol verlopen, waardoor deze rondzending in 2016 als een "gewone" rondzending zal worden aangeboden. Zoals de rondzending moleculaire parasitologie wordt deze rondzending ook in de Engelse taal worden aangeboden zodat ook buitenlandse laboratoria kunnen deelnemen.

### *Deelnemersmiddag*

De sectie organiseert sinds lange tijd met groot succes een jaarlijkse deelnemersmiddag. Deze middag is bedoeld voor laboratoriummedewerkers die zich inhoudelijk bezighouden met de parasitologie rondzendingen van de SKML, zoals (arts-) microbiologen en klinisch chemici; microbiologische en klinisch chemisch analisten met een parasitologische specialisatie en arts-assistenten in opleiding. Het doel van de bijeenkomst is het bespreken van bijzondere bevindingen uit de rondzendingen parasitologie van het voorafgaande jaar en het intensiveren van het contact tussen de deelnemers en de sectie parasitologie. In 2015 werd op 19 maart in het KNAW Trippenhuys in Amsterdam de jaarlijkse deelnemersmiddag georganiseerd met als 'key-note speakers' Foekje Stelma & Monique Keuter van het Radboud UMC te Nijmegen. Ook dit jaar was de middag met 120 deelnemers 'uitverkocht'.

## Resultaten van de rondzendingen in 2015

In 2014 namen 85 instellingen deel aan de SKML rondzending Bloed en darmparasieten.

### Details per materiaal Bloed en darmparasieten

Rondenr	Materiaalnr	Parasieten	Aantal max scores /aantal inzenders
2015-1	A	<i>P. falciparum</i> (13,4%)	78/78 (100%)
	B	<i>P. malariae</i>	72/78 (92%)
	C	<i>P. ovale</i>	34/78 (34%) (educatief)
	D	<i>G. lamblia</i> & <i>E. histolytica/dispar</i>	50/58 (86%)
	E	<i>Fasciola hepatica</i>	57/59 (97%)
	F	Lysaat P.f en P. species positief	29/34 (85%) (proef)
	G	Lysaat P. species positief	38/42 (93%) (proef)
2015-2	A	<i>Trypanosoma brucei spp</i>	70/77 (91%)
	B	<i>P. falciparum</i> (0,35%)	68/77 (88%)
	C	<i>Cyclospora cayetanensis</i>	43/58 (74%)
	D	<i>Strongyloides stercoralis</i> (L3)	50/54 (93%)
2015-3	A	<i>P. falciparum</i> (2,2%)	79/80 (99%)
	B	<i>P. vivax</i>	72/80 (90%)
	C	<i>G. lamblia</i> & <i>D. fragilis</i>	38/60 (63%)
	D	<i>D. latum</i>	49/60 (82%)
	E	Lysaat negatief	56/57 (98%) (proef)
	F	Lysaat P. species positief	49/56 (86%) (proef)
2015-4	A	<i>P. falciparum</i> (1,1%)	78/78 (100%)
	B	<i>P. vivax</i>	61/78 (78%)
	C	<i>Ascaris</i> species (adult)	60/60 (100%)
	D	<i>S. haematobium</i>	53/60 (88%) (educatief)

In deze tabel is per monster het aantal deelnemers vermeld dat de maximale score behaalde voor de determinatie van de parasieten. In de percentage berekeningen zijn alleen de deelnemers betrokken die voor het betreffende monster een determinatie resultaat hebben ingezonden. In 2015 is voor 1 bloedmateriaal een relatief laag hoog percentage onjuiste resultaten gerapporteerd door de deelnemers (2015-4B). Bij deze *P. vivax* infectie was weinig Schüffnerse stippeling in de geïnfecteerde rode bloed cellen aanwezig, waardoor veel deelnemers *P. species* of *P. malariae* rapporteerden. Overige materialen werden conform verwachting gerapporteerd.

Resultaten voor van beoordeling van de darmparasieten is zoals gewoonlijk minder goed dan die voor de bloedpreparaten. Vooral voor de materialen met parasitaire protozoa werden veel foutieve resultaten gerapporteerd (2015-2C en 2015-3C). Conform de observatie in 2014 blijkt determinatie van met name protozoaire parasieten in feces lastig, terwijl dit een wezenlijk onderdeel van microscopische beoordeling van feces op de aanwezigheid van darmparasieten is.

## Details per materiaal moleculaire parasitologie

Rondenr	Monsternr	Parasieten	Aantal max scores /aantal inzenders
2015-1	A	<i>D. fragilis</i>	28/28 (100%)
	B	<i>G. lamblia</i>	31/32 (97%)
	C	<i>Cryptosporidium spp</i>	31/32 (97%)
2015-2	A	<i>D. fragilis</i> & <i>E. dispar</i>	24/26 (92%), 5/6 (83%) • 1Cr & 2Df
	B	<i>E. histolytica</i>	30/31 (97%) • 1 Ed
	C	<i>G. lamblia</i>	31/31 (100%)
2015-3	A	<i>D. fragilis</i>	27/27 (100%) • 1 Gl
	B	<i>Cryptosporidium spp</i>	30/31 (97%)
	C	<i>G. lamblia</i>	30/31 (97%) • 1 Eh

Bijna alle deelnemers voeren PCR's uit voor *G. lamblia*, *Cryptosporidium* species en *E. histolytica* (ca. 30 deelnemers). In 2015 is het aantal deelnemers dat een PCR voor *Dientamoeba fragilis* uitvoert, ligt afgenomen van 29 tot 25 deelnemers. Een gering aantal deelnemers (6) voert een PCR uit voor *E. dispar*. In de 9 verstuurd materialen was DNA van 10 van de pathogenen aanwezig (8 materialen met 1 pathogeen en 1 materiaal met 2 pathogenen). Van de 10 aanwezige pathogenen, werden slechts 3 pathogenen door 100% van de deelnemers gerapporteerd, terwijl in 2014 nog 66% van aanwezige pathogenen door 100% van de deelnemers werd gerapporteerd. Rapportage van fout negatieve resultaten lijkt daarom iets toegenomen, terwijl het aantal deelnemers niet is toegenomen en de aanwezige hoeveelheid parasieten ook niet substantieel anders was t.o.v. 2014. Conform de resultaten van 2014, werden in 2015 ook fout positieve resultaten gerapporteerd (aangegeven met • in bovenstaande tabel). In 2014 rapporteerden de deelnemers 8 fout positieve resultaten en in 2015 6 maal. Een enkele keer was dit waarschijnlijk het gevolg van materiaal verwisseling, maar in de meeste gevallen waren dit waarschijnlijk echt fout positieve uitslagen. Deze resultaten zijn een aanwijzing dat contaminatie mogelijk een probleem in 1 of meer van laboratoria van deelnemers een probleem is.

Het meest opvallende aan de resultaten van deze rondzending zijn de grote verschillen de gerapporteerde Ct/Cp waarden tussen de diverse deelnemers (> 10 cycli). Deze verschillen blijken aanwezig in alle PCR onderzoeken. De variatie wordt niet veroorzaakt door inhomogeen materiaal, omdat een onafhankelijke, vijfvoudige analyse in 1 referent laboratorium (de intra-laboratorium variatie) laat zien dat de spreiding tussen de uitgevulde materialen minder dan 1 Ct/Cp waarde is. Daarnaast zijn de materialen stabiel, omdat controle 2 weken voor en 2 weken na rondzending in meerdere laboratoria van de referenten laat zien dat de Ct waarde in deze periode maximaal 2 Ct/Cp eenheden toeneemt. De spreiding moet daarom het gevolg zijn van de verschillen in methode en apparatuur tussen de deelnemers. Inmiddels is duidelijk dat er veel verschillen tussen de deelnemers bestaan; DNA target, DNA isolatie methode en apparatuur. In 2015 heeft de sectie 1 maal een bonusmateriaal rond gestuurd om de oorzaak van deze variatie verder te onderzoeken. Bij ronde 2 werd ook gezuiverd DNA van *G. lamblia* rondgestuurd. De spreiding in gerapporteerde Ct/Cp waarden voor dit materiaal waren bijna net zo groot als voor *G. lamblia* in fecesmateriaal. Dit resultaat geeft aan dat variatie niet alleen door verschillen in voorbereiding en/of DNA extractie veroorzaakt wordt, maar ook door de PCR zelf en/of interpretatie van de resulterende curve. In 2016 hoopt de sectie nog meer inzicht te verkrijgen in de oorzaken van de inter-laboratorium variatie.

## Details per materiaal moleculaire diagnostiek *Trichomonas vaginalis*

Rondenr	Monsternr	Parasieten	Aantal max scores /aantal inzenders
2015-1	A	Negatief	23/23 (100%)
	B	<i>T. vaginalis</i> (Ct 35.5)	23/24 (96%)
	C	<i>T. vaginalis</i> (Ct 35.5)	23/25 (92%)
2015-2	A	<i>T. vaginalis</i> (Ct 26.3)	27/27 (100%)
	B	Negatief	25/26 (96%)
	C	<i>T. vaginalis</i> (Ct 29.3)	27/27 (100%)

In 2015 werd voor de eerste maal een proefronzending voor Moleculaire Diagnostiek naar *T. vaginalis* georganiseerd, waaraan 30 deelnemers mee deden. In 2 ronde werden ieder 3 materialen rondgestuurd, beide keren 2 positieve en 1 negatief materiaal. Bij de eerste ronde werd materiaal rondgestuurd met een lage parasieten concentratie, waardoor het gemiddelde van de gerapporteerde Ct/Cp waarde van de deelnemers > 35 cycli was. Desondanks rapporteerde bijna deelnemers de aanwezigheid van *T. vaginalis* in de materialen 2015-1 B en C. In ronde 2 werden sterk positieve materialen rondgestuurd (2015-2A en B). Alle deelnemers (100%) rapporteerden voor deze materialen de juiste uitslag. Een deelnemer rapporteerde voor materiaal 2015.2B een fout positieve uitslag.

Deze proefronzending is door de SKML sectie parasitologie geevalueerd en goed bevonden, waardoor deze rondzending in 2016 als een reguliere rondzending zal worden aangeboden.

### Verdiepingsvragen

In 2015 rapporteerden circa 30 deelnemers antwoorden op de verdiepingsvragen van de rondzending Bloed en darmparasieten, circa 10 deelnemers bij de rondzending Moleculaire Parasitologie en ca. 6 deelnemers bij de rondzending Moleculaire Diagnostiek naar *T. vaginalis*. De verdiepingsvragen zijn vooral bedoeld om binnen de teams te bespreken. Alle aspecten rond de diagnostiek komen aan de orde, zowel de laboratorium technische als de theoretische en klinische. De combinatie van open vragen en meerkeuze vragen geeft mogelijkheden om redeneringen achter de keuzes te verduidelijken. Daarnaast zijn de verdiepingsvragen gebruikt om inzicht te krijgen in gebruik van specifieke methoden voor moleculaire diagnostiek en om de belangstelling te peilen bij de deelnemers voor eventuele inclusie van de malaria sneldiagnostiek. De sectie heeft er begrip voor dat veel laboratoria vanwege tijdsgebrek de verdiepingsvragen niet invullen. Daarbij worden hier geen punten voor toegekend, waardoor de noodzaak minder hoog lijkt. Toch is het belangrijk voor het vakgebied en het functioneren van de sectie dat de verdiepingsvragen door zoveel mogelijk deelnemers worden ingevuld. Juist ook door laboratoria die geen assistenten in opleiding tot microbioloog hebben en laboratoria die specifiek mee doen aan de moleculaire rondzendingen. We hopen op een actieve participatie van een groter aantal deelnemers in 2016.

---

Namens, en in overleg met, de PAR-sectie  
Jaap van Hellemond & Lisette van Lieshout  
Rotterdam, januari 2016