



Stichting Kwaliteitsbewaking
Medische Laboratoriumdiagnostiek



Overige moleculaire diagnostiek – overzicht 2022 met verdieping

Dr. Jaap van Hellemond

Dept. Medische Microbiologie & Infectieziekten

Erasmus MC, Rotterdam

9 februari 2023

Erasmus MC
Instituut voor Tropische Ziekten



Moleculaire rondzendingen

2011: gastro-intestinale protozoa

2015: *Trichomonas vaginalis* / SOA panel

2018: Helminthen in feces

Ethanol gefixeerde feces voor DNA-amplificatie gebaseerde technieken

2020: Malaria

EDTA-bloedlysaat voor DNA-amplificatie gebaseerde technieken

- homogeen en stabiel materiaal

- geschikt voor LAMP sneltest (bv Illumigene) en/of real-time PCR

2021: *Acanthamoeba*

Helminthen in feces (HEMQAS)

1 ronde met minimaal 8 materialen

- Ethanol gefixeerde feces voor DNA-amplificatie gebaseerde technieken
- + vaak gezuiverd DNA

Targets: *Strongyloides stercoralis*, *Schistosoma* spp, *Ascaris* spp,
Trichuris trichiura, mijnwormen

Taal: Engels

Deelnemers: 34 (afkomstig van alle continenten behalve Antarctica)

Helminthen in feces (HEMQAS)

Target	Participants	Stool Samples (n=10)		DNA Samples (n=6)	
		false positive	false negative	false positive	false negative
<i>Ancylostoma</i> spp	15	3 of 135 (2%)	4 of 15 (27%)	2 of 60 (4%)	0 of 0
<i>Ascaris</i> spp	16	3 of 128 (2%)	3 of 32 (9%)	2 of 30 (7%)	3 of 60 (5%)
<i>Necator americanus</i>	16	2 of 112 (2%)	4 of 48 (8%)	3 of 60 (5%)	2 of 30 (7%)
<i>Schistosoma</i> spp	19	0 of 133 (0%)	7 of 38 (18%)	0 of 54 (0%)	3 of 36 (8%)
<i>Strongyloides stercoralis</i>	25	0 of 175 (0%)	10 of 75 (13%)	1 of 96 (0%)	0 of 48 (0%)
<i>Trichuris trichiura</i>	15	1 of 90 (1%)	9 of 30 (30%)	0 of 56 (0%)	0 of 28 (0%)
Total	34	9 of 757 (1%)	37 of 238 (16%)	8 of 396 (2%)	8 of 202 (4%)

Sensitiviteit: feces 86%, DNA 96%

Specificiteit: hoog (fout positief 1 a 2 %)

Relatief veel fout negatieve resultaten voor *Trichuris trichiura*

Veel variatie in gerapporteerde Cq waarden

Acanthamoeba spp.

1 ronde met 10 tot 16 materialen

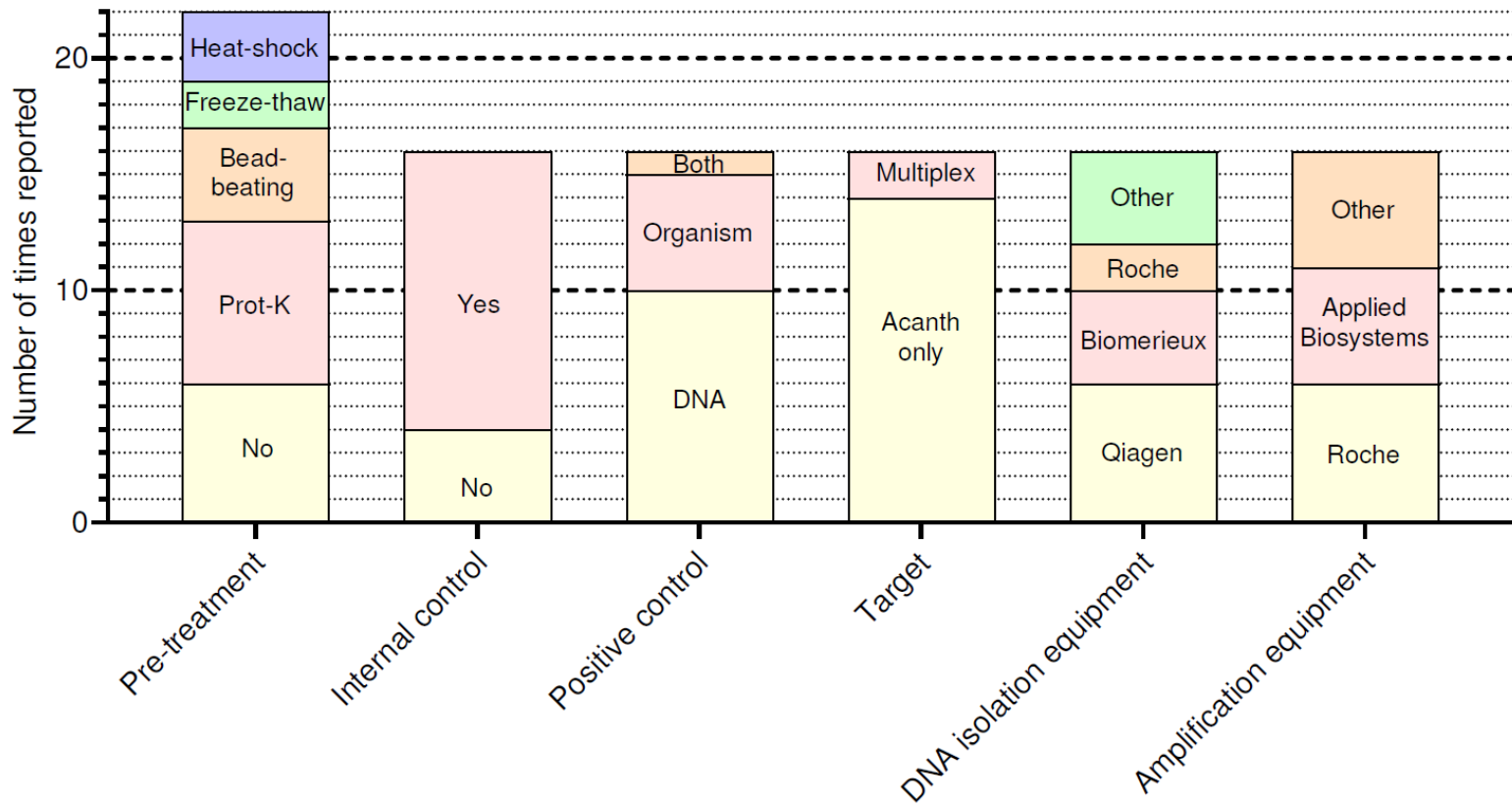
- suspensies van echte parasieten (verschillende stadia)
- gezuiverd DNA

Taal: Engels

Deelnemers: 16 (Europa & V.S.)

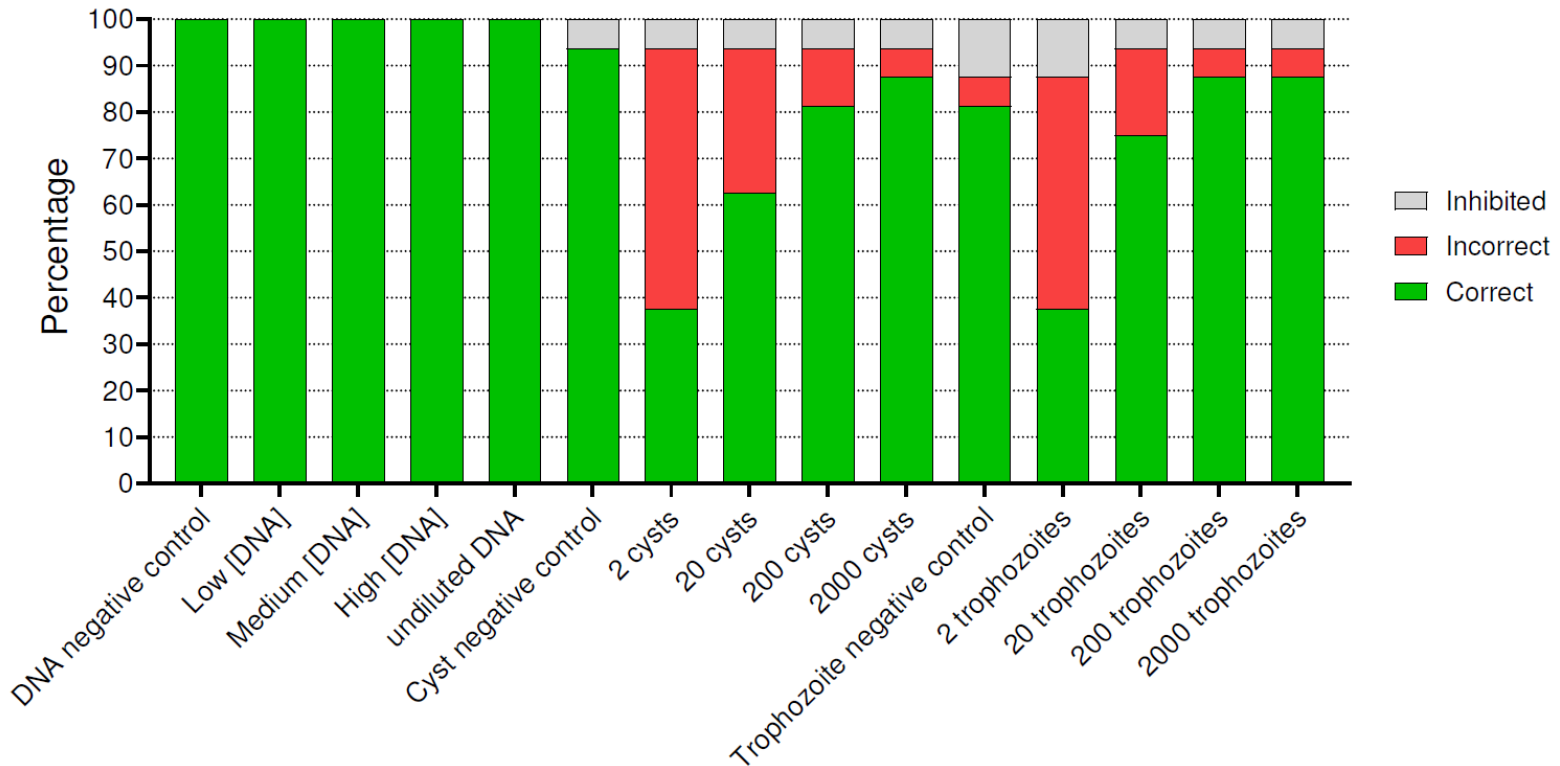
Acanthamoeba spp.

Variations in methodology



Acanthamoeba spp.

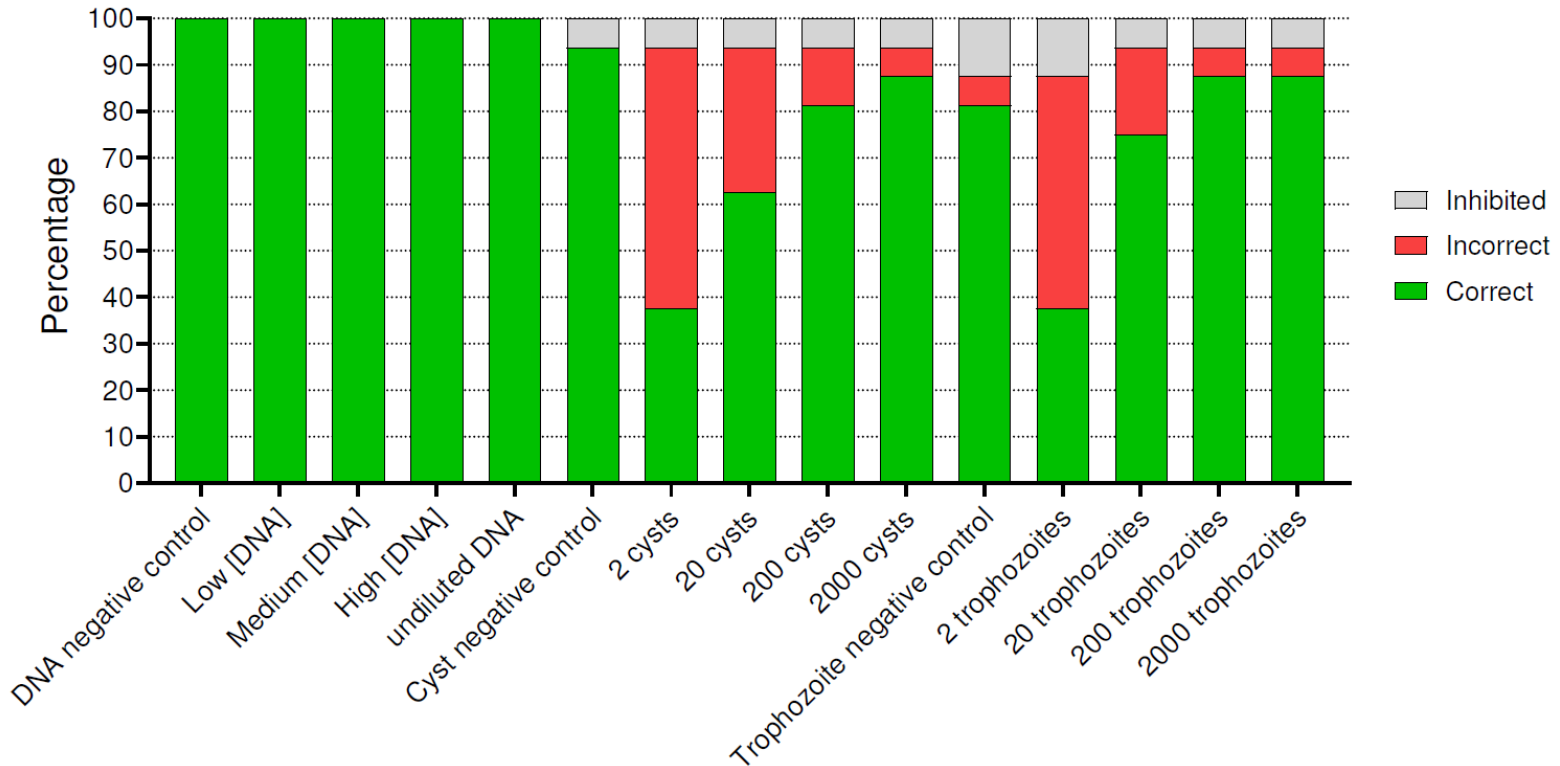
Qualitative results



Correlatie fout negatief met concentratie amoeben

Acanthamoeba spp.

Qualitative results



Correlatie fout negatief met concentratie amoeben
Veel variatie in gerapporteerde Cq waarden

Onderzoek

Doel SKML en sectie parasitologie:

Verbeteren van kwaliteit van (parasitologische) diagnostiek

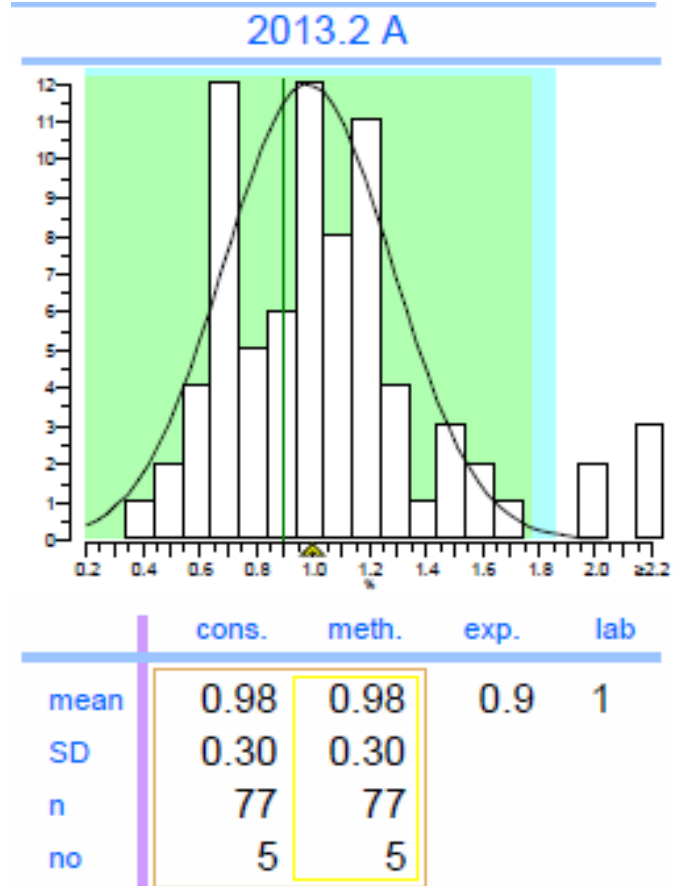
d.m.v. het inzichtelijk maken van

-verschil deelnemer vs alle deelnemers

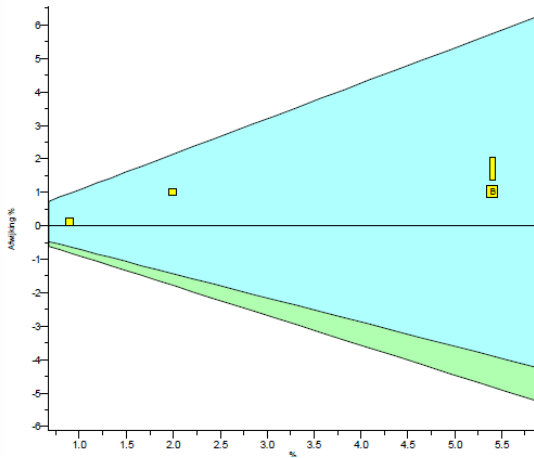
Rapporten & kwantitatieve resultaten

Bij voorbeeld *P. falciparum* parasitaemie

- Rapportage van histogrammen
 - Geel: eigen resultaat
 - Groen: Total Error allowable (TEa) tolerantiegebied
 - Blauw: State of the Art (SA) tolerantiegebied



MUSE rapportage



	2013.4 P-sc	cumulative P-sc
Accuracy	+19%	+22%
Precision		7.0%
Number	1	3
Outliers	0	0
Sigma-TE	6.0	5.9
Sigma-SA	6.0 2	6.0 2
Score pictogram		
Regression line		

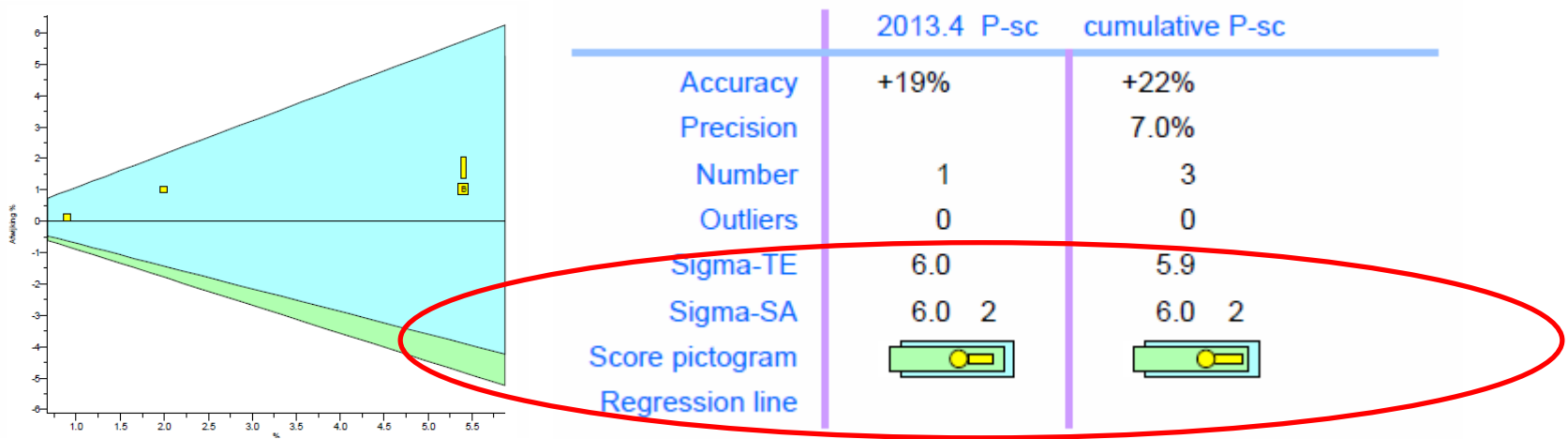
Cumulatief overzicht

- Tabel
 - Accuracy (juistheid) = **gemiddelde** afwijking in % tov expertwaarde
 - Precisie = **spreiding** in % van de eigen resultaten t.o.v. de regressielijn

Inzicht in

- Juistheid: systematische fout (consequent te hoog/laag in welke parasitaemie range)
- Spreiding: variatie in afwijking

MUSE rapportage



Cumulatief overzicht

- Tabel
 - P-Sc (performance score)
 - Sigma-TE (blauw) en Sigma SA (groen)

Performance score:

Bepaald uit resultaat t.o.v. TE/SA tolerantiegrenzen (is TE of SA-sigma waarde)
(zie handleiding MUSE voor statistische onderbouwing Sigma berekening)

Onderzoek

Doel SKML en sectie parasitologie:
Verbeteren van kwaliteit van (parasitologische) diagnostiek
d.m.v. het inzichtelijk maken van
-verschil deelnemer vs alle deelnemers
-kracht en zwakten van methoden in klinische praktijk

Boonstra et al. *Malar J* (2021) 20:411
<https://doi.org/10.1186/s12936-021-03889-7>

Malaria Journal

PLOS NEGLECTED TROPICAL DISEASES

RESEARCH

Open Access

Malaria diagnosis in a malaria non-endemic high-resource country: high variation of diagnostic strategy in clinical laboratories in the Netherlands

Marrit B. Boonstra¹, Rob Koelewijn¹, Eric A. T. Brienen², Welmoed Silvis³, Foekje F. Stelma⁴, Theo G. Mank⁵, Bert Mulder⁶, Lisette van Lieshout² and Jaap J. van Hellemond^{1*}



Clin Chem Lab Med 2018; 56(10): 1722–1727

DE GRUYTER

Theo A. Schuur³, Rob Koelewijn, Eric A.T. Brienen³, Titia Kortbeek⁴, Theo G. Mank⁴, Bert Mulder³, Foekje F. Stelma³, Lisette van Lieshout³ and Jaap J. van Hellemond^{3,*}
Harmonization of PCR-based detection of intestinal pathogens: experiences from the Dutch external quality assessment scheme on molecular diagnosis of protozoa in stool samples

RESEARCH ARTICLE

First international external quality assessment scheme of nucleic acid amplification tests for the detection of *Schistosoma* and soil-transmitted helminths, including *Strongyloides*: A pilot study

Piet Cools¹, Lisette van Lieshout^{2,3}, Rob Koelewijn^{3,4}, David Addiss⁵, Sitara S. R. Ajampur⁶, Mio Ayana⁷, Richard S. Bradbury⁸, Jason L. Cantera⁹, Daniel Dana⁷, Kerstin Fischer¹⁰, Rubina Imitiaz¹¹, Joyce Kabagenyi¹², James Lok¹³, James McCarthy¹⁴, Rojelio Mejia¹⁵, Zeleke Mekonnen⁷, Sammy M. Njenga¹⁶, Nurulhasanah Othman¹⁷, Hongguang Shao¹⁸, Rebecca Traub¹⁸, Marjan Van Esbroeck¹⁹, Jozef Vercruyse¹, Johnny Vlamincck¹⁸, Steven A. Williams^{20,21}, Jaco J. Verweij²², Jaap J. van Hellemond^{3,4}, Bruno Levecke^{1*}

Organisatie parasitologische rondzendingen SKML

Sectie Parasitologie:

9 leden

Coördinatie & MBC

Erasmus MC

Expertlaboratoria:

14 laboratoria



Division of Gastrointestinal Sciences



Organisatie parasitologische rondzendingen SKML

Sectie Parasitologie:
Coördinatie & MBC
Expertlaboratoria:

9 leden
Erasmus MC
14 laboratoria



Organisatie parasitologische rondzendingen SKML

Sectie Parasitologie:	9 leden
Coördinatie & MBC	Erasmus MC
Expertlaboratoria:	14 laboratoria

Per jaar:

15	rondzendingen
>50	materialen
>1700	Uitstrijken en DD
>1800	cupjes met fecesmaterialen
>200	cupjes urogenitaal-uitstrijkmetaal
>5000	stickers en etiketten
>600	poststukken
>25	verdiepingsvragen
>30	rapporten en vakinhoudelijke besprekingen (NL en En)

Organisatie parasitologische rondzendingen SKML

Sectie Parasitologie:	9 leden
Coördinatie & MBC	Erasmus MC
Expertlaboratoria:	14 laboratoria

Per jaar:

15	rondzendingen
>50	materialen
>1700	Uitstrijken en DD
>1800	cupjes met fecesmaterialen
>200	cupjes urogenitaal-uitstrijkmetaal
>5000	stickers en etiketten
>600	poststukken
>25	verdiepingsvragen
>30	rapporten en vakinhoudelijke besprekingen (NL en En)

Rob Koelewijn, Nicolette v.d. Ham

Touria Azar, Yvonne IJsselstijn & team van analisten parasitologie Erasmus MC

Aanleveren bijzonder materiaal

Bloedparasieten

- Malaria (125 uitstrijkjes & 125 dikke druppels, ieder op apart glaasje)
- Overige bloedparasieten

Darm- & weefselparasieten

- Protozoa
- Helminth eieren en larven

Contact Materiaal Bereidingscentrum SKML sectie parasitologie

- Jaap van Hellemond (j.vanhellemond@erasmusmc.nl)
- Rob Koelewijn (r.koelewijn@erasmusmc.nl)
- Afdeling Medische Microbiologie & Infectieziekten, Erasmus MC

