

Jaarverslag 2018

Sectie Parasitologie – SKML

Rondzending Bloed en darmparasieten

De rondzending bloed en darmparasieten kent een jaarlijks langzaam teruglopend aantal deelnemers, mede omdat steeds meer laboratoria in Nederland fuseren. Toch nemen nog altijd meer dan 80 laboratoria deel aan deze rondzending, waarbij een aantal deelnemers alleen bloedparasieten onderzoekt en een kleiner aantal alleen darmparasieten analyseert. Sinds 2015 worden niet alleen bloed- en fecespreparaten voor microscopische beoordeling rondgestuurd, maar ook bloedlysaten voor malaria antigeentesten (sneldiagnostiek voor malaria). Ongeveer 65 deelnemers rapporteerden in 2018 resultaten voor deze materialen, wat bevestigt dat veel laboratoria deze onderzoeksmethode gebruiken.

In 2019 zal de rondzending bloed- en darmparasieten worden uitgebreid met micro- en macroscopische afbeeldingen voor beoordeling op de aanwezigheid van (bijzondere) parasieten, zoals ectoparasieten. Bij ronde 2019.2 en 2019.4 zal daarom één of meer digitale afbeeldingen via Qbase worden gedistribueerd voor beoordeling op de aanwezigheid van parasieten. De rondzending Bloed- en darmparasieten fungeert daarmee als externe kwaliteitscontrole rondzending voor al het micro- en macroscopisch onderzoek naar (bijzondere) parasieten. Het komende jaar zal dit nog als proef gebeuren en worden er nog geen 'performance scores' toegekend. Indien de proefrondzending goed verloopt, dan zal micro- en macroscopische beoordeling van digitale afbeeldingen van bijzondere parasieten, zoals ectoparasieten een regulier onderdeel van de rondzending bloed- en darmparasieten worden.

Rondzending moleculaire diagnostiek darmprotozoa

In de loop der jaren neemt het aantal deelnemers toe voor de rondzending moleculaire parasitologie, waarbij ongefixeerd fecesmateriaal wordt rondgestuurd voor moleculaire diagnostiek naar darmprotozoa. In 2018 is het panel van protozoa uitgebreid van 5 naar 6, omdat de aan- of afwezigheid van *Blastocystis* spp. ook gevalideerd wordt. In 2018 namen 38 laboratoria deel aan deze rondzending die zowel in de Nederlandse als Engelse taal wordt aangeboden. Inmiddels zijn er deelnemers uit België, Denemarken, Zweden, Italië, Canada en de Nederlandse Antillen. De sectie hoopt het aantal buitenlandse deelnemers de komende jaren nog verder zal toenemen door meer naamsbekendheid te vergaren.

In de 2018 is tevens de eerste publicatie van de SKML sectie parasitologie gepubliceerd in het internationale wetenschappelijke tijdschrift *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. In deze publicatie heeft de sectie haar ervaringen beschreven met externe kwaliteitscontrole rondzendingen voor moleculaire diagnostiek naar darmprotozoa (zie bijlage 1).

Rondzending moleculaire diagnostiek Trichomonas vaginalis

In 2015 heeft de sectie parasitologie een aparte rondzending opgezet voor moleculaire diagnostiek naar *Trichomonas vaginalis*, omdat deze op dat moment ontbrak. Inmiddels verzorgen diverse andere organisaties rondzendingen voor moleculaire diagnostiek naar Seksueel Overdraagbare Aandoeningen (SOA), waardoor het deelnemer aantal voor een aparte rondzending voor *Trichomonas vaginalis* langzaam afnam. Daarom heeft de sectie

een projectsubsidie aangevraagd voor uitbreiding van deze rondzending met bacteriële SOA (Chlamydia en gonorrhoeae). De projectsubsidie is in het voorjaar van 2018 verkregen, waarbij in het najaar 2018 een succesvolle pilot validatie en rondzending is uitgevoerd. De rondzending moleculaire diagnostiek *Trichomonas vaginalis* zal in 2019 vervangen worden door een interdisciplinaire rondzending moleculaire diagnostiek SOA. Deze rondzending zal ook in de Engelse taal worden aangeboden zodat ook buitenlandse laboratoria kunnen deelnemen. In 2018 namen 29 laboratoria uit Nederland, België en Denemarken, deel aan deze rondzending.

Proefrondzending moleculaire diagnostiek worminfecties

In de periode 2017-2018 heeft de sectie met behulp van een SKML-projectsubsidie en in samenwerking met het internationale onderzoek consortium "Children without worms" een proefrondzending gedaan voor moleculaire diagnostiek naar helminthen in feces die in ethanol geconserveerd was. Bij deze rondzending was de aan- of afwezigheid van de volgende helminthen gevalideerd; *Ascaris* spp., *Trichuris trichiura*, *Necator americanus*, *Ancylostoma* spp., *Schistosoma* spp. en *Strongyloides stercoralis*. Aangezien deze diagnostiek maar door een zeer beperkt aantal laboratoria in Nederland wordt verricht, is gebruik gemaakt van een apart (internationaal) panel van expert-laboratoria (in Nederland, de VS en Australië). Ook deze proef is goed verlopen en in 2019 zal gestart worden met een reguliere rondzending voor moleculaire diagnostiek naar helminthen in feces. Voor deze rondzending hebben zich inmiddels 18 deelnemers ingeschreven (uit Europa, Australië, Amerika en Azië).

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 chemische 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 2018 werd op 20 maart in Zaalverhuur 7 in Utrecht de jaarlijkse deelnemersmiddag georganiseerd. Net als in de voorafgaande jaren was de middag met 112 deelnemers praktisch 'uitverkocht'.

Resultaten van de rondzendingen in 2018

Bloed- en darmparasieten

In 2018 namen 81 laboratoria deel aan de SKML rondzending Bloed- en darmparasieten. In de onderstaande tabel is per materiaal 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 materiaal een determinatie resultaat hebben ingezonden.

In 2018 hebben de deelnemers goede resultaten behaald en zijn alle materialen door meer dan 85% van de deelnemers correct beoordeeld op bloedmateriaal 2018-1A en 2018-2A na. Bloedmateriaal 2018-1A bevatte naast *P. falciparum* trofozoïeten ook een klein aantal *P. ovale* parasieten. Dit bloedmateriaal met een dubbel infectie was vanwege de mindere kwaliteit van de preparaten ter educatie rondgestuurd. Bloedmateriaal 2018.2A bevatte microfilaria van *Loa loa*. Determinatie van deze microfilaria bleek lastig,

wat gezien het zeer sporadisch voorkomen van deze infectie in Nederland niet heel verbazingwekkend is.

De 2018 resultaatcores voor malaria-antigeen testen zijn wederom goed, met een correcte beoordeling van meer dan 90% van alle bloedlysaten.

De beoordelingsresultaten van de darmparasieten in feces zijn voor 2018 zelfs bovengemiddeld met een correcte uitslag van meer dan 85% over alle materialen.

Tabel 1: Resultaten per materiaal rondzending Bloed- en darmparasieten

Ronde nr.	Materiaal	Parasieten	Aantal max scores /aantal inzenders
2018-1	A	<i>P. falciparum</i> + <i>P. ovale</i>	6/75 (8,1%) (ter educatie)
	B	<i>P. falciparum</i> gametocysten	62/74 (84%)
	C	<i>P. vivax</i>	62/72 (86%)
	D	<i>Diphyllobothrium latum</i>	54/55 (98%)
	E	<i>E. histolytica/dispar</i> + <i>Giardia lamblia</i>	47/53 (89%)
	F	<i>P. falciparum</i> ± <i>Plasmodium</i> spp. positief	62/67 (91%)
	G	<i>Plasmodium</i> spp. positief	62/67 (91%)
2018-2	A	<i>Loa loa</i> microfilaria	47/66 (71%)
	B	<i>P. vivax</i>	62/72 (86%)
	C	<i>Ascaris</i> spp. + <i>Trichuris trichiura</i>	48/53 (91%)
	D	<i>Taenia</i> spp.	51/53 (96%)
2018-3	A	<i>P. falciparum</i> (3%)	72/73 (99%)
	B	<i>P. ovale</i>	72/73 (99%)
	C	<i>Strongyloides stercoralis</i>	51/57 (90%)
	D	<i>Fasciola hepatica</i> (+ <i>Chilomastix mesnili</i>)	57/57 (100%)
	E	<i>P. falciparum</i> positief	67/68 (99%)
	F	<i>P. falciparum</i> & <i>Plasmodium</i> spp. positief	65/68 (96%)
2018-4	A	<i>Trypanosoma</i> spp.	71/75 (95%)
	B	Geen parasieten	71/75 (95%)
	C	<i>Cyclospora cayetanensis</i>	51/56 (91%)
	D	<i>Giardia lamblia</i>	55/56 (98%)

Moleculaire parasitologie

Bijna alle deelnemers aan de rondzending Moleculaire Parasitologie rapporteerden resultaten voor *G. lamblia*, *Cryptosporidium* species en *E. histolytica* (>30 deelnemers). In 2018 is het aantal deelnemers dat een PCR voor *Dientamoeba fragilis* uitvoert verder afgenomen tot <25 deelnemers. Een gering aantal deelnemers (6) voert PCR onderzoek uit voor *E. dispar* en *Blastocystis* spp. (4). In de 9 verstuurd materialen was DNA van 17 van protozoa aanwezig (4 materialen met 1 protozoa, 4 materialen met 2 protozoa en 1 materiaal met 5 protozoa). Van de 17 aanwezige protozoa, werden maar 6 protozoa door 100% van de deelnemers correct gerapporteerd. Rapportage van fout negatieve resultaten komt vooral voor bij lage parasieten concentraties. Conform de resultaten van voorgaande jaren, werden in 2018 ook fout positieve resultaten gerapporteerd (aangegeven met • in Tabel 2). Deze fout-positieve resultaten zijn een aanwijzing dat

contaminatie of materiaal verwisseling mogelijk in één of meer van laboratoria van deelnemers een probleem is.

Het meest opvallende aan de resultaten van deze rondzending zijn de grote verschillen de gerapporteerde Cq-waarden tussen de diverse deelnemers (> 10 cycli). Deze verschillen blijken aanwezig voor alle verschillende PCR onderzoeken. De variatie wordt niet veroorzaakt door inhomogeen materiaal, omdat een onafhankelijke, vijfvoudige analyse binnen één expert-laboratorium (de intra-laboratorium variatie) laat zien dat de spreiding tussen de uitgevulde materialen minder dan 1 Cq-waarde is. De spreiding in gerapporteerde Cq waarden tussen de verschillende deelnemers 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 in de test uitvoering; zoals DNA-target, DNA-isolatiemethode en gebruikte apparatuur. Analyse van de resultaten tussen 2013 en 2015 heeft aangetoond dat een groot deel van de spreiding te verklaren is door verschillen in de gebruikte hoeveelheid geëxtraheerd DNA uit feces in de PCR. De sectie parasitologie heeft deze resultaten van dit onderzoek in 2018 gepubliceerd in het special issue over "Harmonisatie van laboratoriumbepalingen" van Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (zie bijlage 1).

Tabel 2: Resultaten per materiaal rondzending Moleculaire Parasitologie

Ronde nr.	Monster	Parasieten	Aantal target correct /aantal inzenders (%) • # fout positief
2018-1	A	<i>E. histolytica</i>	32/33 (97%)
	B	<i>G. lamblia</i>	32/32 (100%) • 1 <i>D. fragilis</i>
	C	<i>Cryptosporidium</i> spp. + <i>D. fragilis</i>	30/32 (94%) 17/25 (68%) educatief, ivm lage load
2018-2	A	<i>G. lamblia</i> + <i>D. fragilis</i>	32/33 (97%) 25/26 (96%)
	B	<i>D. fragilis</i>	25/26 (96%)
	C	<i>E. histolytica</i> + <i>D. fragilis</i>	32/34 (94%) • 1 <i>E. dispar</i> 24/26 (92%) educatief, ivm lage load
2018-3	A	<i>E. histolytica</i> + <i>Blastocystis</i> spp.	32/33 (94%) • 1 <i>D. fragilis</i> 4/4 (100%)
	B	<i>G. lamblia</i> + <i>Cryptosporidium</i> spp. +	32/32 (100%) 29/32 (91%)
		<i>E. dispar</i> + <i>Blastocystis</i> spp. +	6/7 (86%) educatief, ivm lage load 4/4 (100%) educatief, ivm lage load
		<i>D. fragilis</i>	21/24 (88%) educatief, ivm lage load
C	<i>G. lamblia</i> + <i>Cryptosporidium</i> spp. +	29/31 (90%) 30/32 (94%) educatief, ivm lage load	

Moleculaire diagnostiek *Trichomonas vaginalis*

In 2018 werden twee rondzendingen met respectievelijk 3 en 4 materialen verstuurd aan een kleine 30 deelnemers. Alle deelnemers (100%) rapporteerden de juiste uitslag voor de rondgestuurde met uitzondering van materiaal 2018.1C en 2018.2D waarin een relatief lage concentratie *T. vaginalis* aanwezig was (respectievelijk 86% en 96% correct).

In ronde 2018-2 werd het materiaal als proef ook gevalideerd voor de aanwezigheid van twee bacteriele verwekkers van SOA; *Chlamydia trachomatis* en *Neisseria gonorrhoeae*.

Van de 28 deelnemers rapporteerden 17 resultaten voor deze twee bacterieele SOA. Al deze deelnemers rapporteerden de juiste resultaten (100% voor beide targets in alle materialen).

Tabel 3: Resultaten per materiaal rondzending Moleculaire Diagnostiek *T. vaginalis*

Ronde nr.	Monster	Parasieten	Aantal max scores /aantal inzenders
2018-1	A	<i>T. vaginalis</i> (Cq 31.6)	28/28 (100%)
	B	<i>T. vaginalis</i> (Cq 28.1)	28/28 (100%)
	C	<i>T. vaginalis</i> (Cq 34.8)	24/28 (86%)
2018-2	A	<i>T. vaginalis</i> (neg)	29/29 (100%)
		<i>C. trachomatis</i> (neg)	17/17 (100%)
		<i>N. gonorrhoeae</i> (Cq 28.2)	17/17 (100%)
	B	<i>T. vaginalis</i> (neg)	29/29 (100%)
<i>C. trachomatis</i> (Cq 29.8)		17/17 (100%)	
<i>N. gonorrhoeae</i> (Neg)		17/17 (100%)	
C	<i>T. vaginalis</i> (Cq 25.8)	26/26 (100%)	
	<i>C. trachomatis</i> (neg)	17/17 (100%)	
	<i>N. gonorrhoeae</i> (Neg)	17/17 (100%)	
D	<i>T. vaginalis</i> (Ct 32.8)	25/26 (96%)	
	<i>C. trachomatis</i> (neg)	17/17 (100%)	
	<i>N. gonorrhoeae</i> (Neg)	17/17 (100%)	

Verdiepingsvragen

Conform voorgaande jaren rapporteerden in 2018 circa 30 deelnemers antwoorden op de verdiepingsvragen van de rondzending Bloed en darmparasieten en circa 10 deelnemers bij de moleculaire rondzendingen. 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 onderdelen. 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.

Samenstelling van de SKML sectieparasitologie

De samenstelling van de SKML sectie parasitologie is in 2018 ongewijzigd;

Dr. Jaap van Hellemond	(voorzitter en coördinator)
Dr. Theo Mank	(penningmeester)
Dr. Lisette van Lieshout	(secretaris)
Dr. Foekje Stelma	(lid namens de NVMM)
Dr. Theo Schuurs	(lid namens de WMDI van de NVMM)
Dr. Bert Mulder	(adviserend lid)
Drs. Titia Kortbeek	(adviserend lid)
Dhr. Eric Brienen	(adviserend lid)

Coördinatie en materiaal bereidingscentrum

Sinds 2012 wordt de coördinatie en materiaalbereiding voor de parasitologische rondzendingen van de SKML verzorgt door de afdeling Medische Microbiologie & Infectieziekten van het Erasmus MC (en destijds het Havenziekenhuis) te Rotterdam. Sinds die tijd is de Nederlandstalige rondzending bloed- en darmparasieten uitgebreid

met 3 internationale rondzendingen voor moleculaire diagnostiek naar parasieten. Voor al deze rondzendingen worden jaarlijks circa 25 verdiepingsvragen en 20 resultaat/discussierapporten opgesteld, waarvan het merendeel in zowel het Nederlands als het Engels. Voor alle rondzendingen zijn veel materialen nodig en daarvoor worden jaarlijks meer dan 50 verschillende materialen bereid. Om alle 30 tot 90 deelnemers (afhankelijk van de rondzending) van materiaal te kunnen voorzien worden door het materiaal bereidingscentrum jaarlijks ongeveer 1500 uitstrijkjes en 1500 dikke druppels gemaakt en gekleurd. Daarnaast worden er meer dan 400 bloedlysaten , 1200 fecessuspensies en 200 urines/urogenitaal uitstrijkmaterialen uit gevuld in cupjes, meer dan 5000 etiketten geplakt en meer dan 600 poststukken verzonden. Dankzij de tomeloze inzet, kennis en kunde van Rob Koelewijn, Nicolette v.d. Ham en het team van analisten van de afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten van het Erasmus MC heeft de SKML sectie parasitologie het afgelopen jaar weer kwalitatief goede preparaten met een divers en bijzonder pallet van parasieten kunnen selecteren voor de parasitologische rondzendingen.

Namens de SKML-sectie parasitologie.

Dr. Jaap van Hellemond (voorzitter en coördinator) & Dr. Lisette van Lieshout (secretaris)

Januari 2019