

# Jaarverslag 2016

## 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 een kleine 90 laboratoria deel aan deze rondzending, waarbij een aantal deelnemers alleen bloedparasieten rapporteert en een kleiner aantal alleen darmparasieten analyseert. Uit verdiepvragen van de rondzendingen in 2014 bleek dat er behoefte bestond aan materialen 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. In 2016 werden 2 maal 2 bloedlysaat-materialen rondgestuurd voor onderzoek op de aanwezigheid van antigenen van *Plasmodium* parasieten. Een kleine 70 deelnemers rapporteerden resultaten voor deze materialen, wat bevestigd dat veel laboratoria deze onderzoeksmethode gebruiken.

### *Rondzending moleculaire parasitologie*

Ook in 2016 namen een dertigtal laboratoria deel aan deze rondzending voor moleculair onderzoek naar parasieten. Deze rondzending wordt zowel in de Nederlandse als Engelse taal aangeboden, waardoor het voor het voor laboratoria uit andere Europese landen ook mogelijk is om aan deze rondzending mee te doen. Inmiddels zijn er deelnemers uit België, Denemarken, Zweden en Italië. De sectie hoop het aantal buitenlandse deelnemers de komende jaren te vergrootten door meer naamsbekendheid te vergaren.

### *Rondzending moleculaire diagnostiek Trichomonas vaginalis*

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 bestond aan een rondzending voor moleculaire diagnostiek naar *Trichomonas vaginalis*, omdat dit destijds door geen enkele organisatie werd aangeboden. 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. Deze proefrondzending, waaraan 28 laboratoria deelnamen, is succesvol verlopen. In 2016 hebben 31 laboratoria deelgenomen aan een reguliere rondzending voor dit onderzoek. Deze rondzending wordt gelijk aan die van moleculaire parasitologie ook in de Engelse taal 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 2016 werd op 17 maart in het KNAW Trippenhuis in Amsterdam de jaarlijkse deelnemersmiddag georganiseerd met als 'key-note speakers' Bram Goorhuis AMC te Amsterdam. Ook dit jaar was de middag met 120 deelnemers 'uitverkocht'.

## Resultaten van de rondzendingen in 2016

In 2016 namen 91 instellingen deel aan de SKML rondzending Bloed en darmparasieten.

### Details per materiaal Bloed en darmparasieten

Rondenr	Materiaalnr	Parasieten	Aantal max scores /aantal inzenders
2016-1	A	<i>P. vivax</i>	56/78 (72%)
	B	<i>P. ovale</i>	68/78 (87%)
	C	<i>Taenia</i> spp	56/59 (95%)
	D	<i>D. fragilis</i> & <i>E. coli</i>	27/57 (47%) (educatief)
	E	Lysaat negatief	59/59 (100%)
	F	Lysaat P.f en <i>P. species</i> positief	56/60 (93%)
2016-2	A	<i>P. falciparum</i> (0,08%)	65/71 (92%)
	B	<i>P. falciparum</i> (0,5%) + gametocyten	69/72 (96%)
	C	<i>G. lamblia</i>	54/54 (100%)
	D	<i>Fasciola</i> spp	55/55 (100%)
2016-3	A	<i>P. falciparum</i> (8%)	76/77 (99%)
	B	<i>P. knowlesi</i> (4,2%)	60/77 (78%) (educatief)
	C	<i>H. diminuta</i>	53/58 (91%)
	D	<i>H. nana</i> (+ spor. <i>G. lamblia</i> )	56/58 (97%)
	E	Lysaat P.f en <i>P. species</i> positief	59/68 (87%)
	F	Lysaat P.f positief	56/68 (82%) (educatief)
2016-4	A	<i>P. falciparum</i> (1,1%)	76/78 (98%)
	B	Negatief (+ H-J bodies)	76/78 (98%)
	C	<i>Cyclospora cayetanensis</i>	56/57 (98%)
	D	<i>Cryptosporidium</i> spp	44/57 (77%)

In deze 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 monster een determinatie resultaat hebben ingezonden. In 2016 is voor 1 fecesmateriaal een relatief hoog percentage onjuiste resultaten gerapporteerd door de deelnemers (2016.1D), omdat relatief weinig deelnemers de beide aanwezige protozoa rapporteerden. Omdat minder dan de helft van de deelnemers een volledig juist resultaat rapporteerden is aan dit materiaal geen "performance score" toegekend (educatief materiaal). In bloedmateriaal 2016.3B waren *P. knowlesi* parasieten aanwezig en omdat deze *Plasmodium* species zeer sporadisch voorkomt en morfologisch moeilijk te onderscheiden is van *P. malariae* is ook dit materiaal als educatief materiaal verzonden. Overige materialen werden conform verwachting gerapporteerd.

De resultaat scores voor malaria antigeen testen zijn minder goed dan in 2015. Aan de beoordeling van materiaal 2016.3F is geen performance score toegekend, omdat alle deelnemers die de Diamed Optimal malaria antigeentest gebruikten een fout negatief resultaat rapporteerden. Aangezien deze antigeentest als enige gebruik maakt van detectie van PfLDH als antigeen van *P. falciparum* en alleen de stabiliteit van het HRP-2 antigeen voor deze rondzending gevalideerd was, kon niet uitgesloten worden dat het PfLDH antigeen niet meer aangetoond konden worden vanwege een mogelijk stabiliteitsprobleem. Het materiaalbereidingscentrum zal dat in 2016 en 2017 verder onderzoeken, zodat materialen die in 2017 verzonden worden ook voor dit antigeen gevalideerd zijn.

Resultaten voor van beoordeling van de darmparasieten is zoals gewoonlijk minder goed dan die voor de bloedparasieten. Conform de observatie in 2014 en 2015 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 target correct /aantal inzenders (%) • # fout positief
2015-1	A	<i>D. fragilis</i>	27/27 (100%)
	B	<i>E. histolytica</i>	25/30 (83%) • 3GI, 1Ed
	C	<i>D. fragilis</i>	26/27 (96%)
2015-2	A	<i>G. lamblia</i> + <i>D. fragilis</i>	26/26 (100%) 26/26 (100%)
	B	<i>D. fragilis</i>	26/26 (100%)
	C	<i>G. lamblia</i>	27/30 (90%)
2015-3	A	<i>E. histolytica</i>	27/31 (87%) • 1 Df
	B	<i>Cryptosporidium spp</i>	30/30 (100%) • 1 Df
	C	<i>G. lamblia</i>	30/30 (100%) • 3 Df

Bijna alle deelnemers voeren PCRs uit voor *G. lamblia*, *Cryptosporidium* species en *E. histolytica* (ca. 30 deelnemers). In 2016 is het aantal deelnemers dat een PCR voor *Dientamoeba fragilis* uitvoert gestabiliseerd tot 27 deelnemers. Een gering aantal deelnemers (8) 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 6 pathogenen door 100% van de deelnemers gerapporteerd. Rapportage van fout negatieve resultaten komt vooral voor bij lage parasieten concentraties, zoals dat voor de twee *E. histolytica* bevattende feces materialen het geval was. Conform de resultaten van 2014 en 2015, werden in 2016 ook fout positieve resultaten gerapporteerd (aangegeven met • in bovenstaande tabel). In 2014 rapporteerden de deelnemers 8 fout positieve resultaten, in 2015 zes maal en in 2016 negen 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 ronde 2016.3 waren de verdiepingsvragen gericht op deze verschillen in voorbereiding en DNA isolatie. In 2017 zullen deze resultaten worden geanalyseerd om meer inzicht te krijgen in de oorzaken van de inter-laboratorium variatie.

## Details per materiaal moleculaire diagnostiek *Trichomonas vaginalis*

Rondenr	Monsternr	Parasieten	Aantal max scores /aantal inzenders
2016-1	A	Negatief	31/31 (100%)
	B	<i>T. vaginalis</i> (Ct 37.7)	19/31 (61%) (educatief)
	C	<i>T. vaginalis</i> (Ct 35.9)	27/31 (87%) (educatief)
2016-2	A	<i>T. vaginalis</i> (Ct 34.0)	25/29 (86%)
	B	<i>T. vaginalis</i> (Ct 34,5)	26/29 (90%)
	C	Negatief	29/29 (100%)

In 2016 werden twee rondzendingen met ieder 3 materialen verstuurd aan 31 deelnemers. Bij de eerste ronde werden twee positieve materiaal geïncubeerd met een geringe parasieten concentratie. Omdat de mediaan van de gerapporteerde Ct waarden >35 was, is er geen "performance score" voor beoordeling van deze materialen toegekend. In ronde 2 werden materialen rondgestuurd met meer parasieten, waardoor meer deelnemers de aanwezigheid van *T. vaginalis* correct rapporteerden. Alle deelnemers (100%) rapporteerden voor de negatieve materialen de juiste uitslag.

### 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. 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 2017.

---

Namens, en in overleg met, de PAR-sectie  
Jaap van Hellemond & Lisette van Lieshout  
Rotterdam, januari 2017