

Van kweek naar moleculair: consequenties voor harmonisatie.

Foekje Stelma¹, Erwin Duizer², Mirjam Kooistra³, Jeroen Thjie⁴, Frans Verduyn-Lunel⁵,
Katja Wolters⁶

1)Laboratorium voor Medische Microbiologie, Radboudumc, Nijmegen.

2)Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene (RIVM), Bilthoven.

3)Laboratorium voor Infectieziekten in Groningen.

4)Stichting PAMM, Veldhoven.

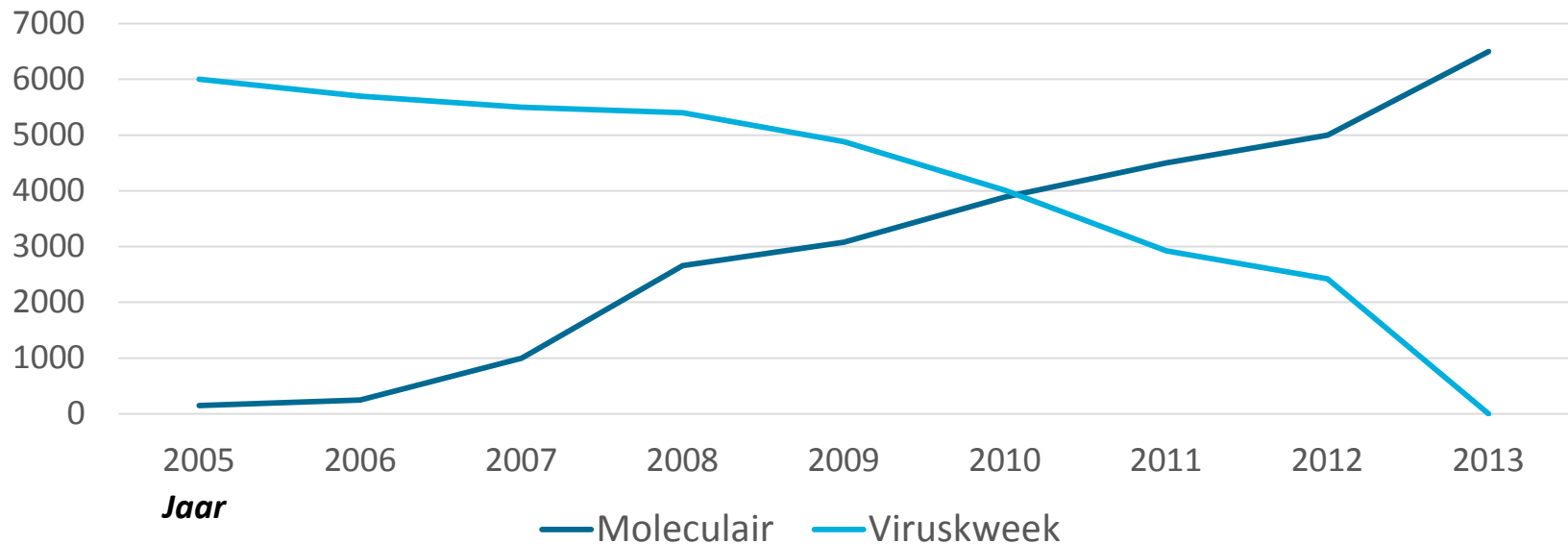
5)Laboratorium voor Medische Microbiologie, UMCU, Utrecht.

6)Dept. Medische Microbiologie, AMC, Amsterdam.

De snelle opkomst van moleculaire technieken

Ontwikkeling van virologische diagnostiek in het Radboudumc 2005-2013

Aantallen



Voordelen van Moleculaire diagnostiek

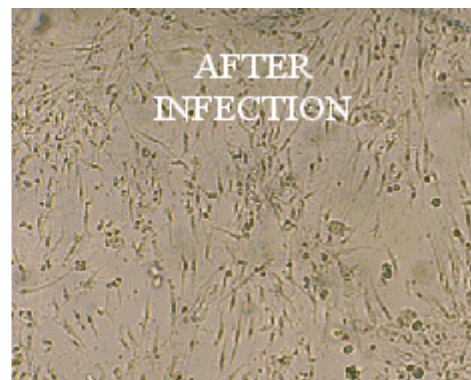
- 1) Zorg rondom patiënten met een infectie verbeteren
 - snelle diagnose voorkomt onnodige extra diagnostiek
 - maakt het mogelijk empirisch antibiotische therapie te staken
 - Kan de ligduur in het ziekenhuis verkorten
- 2) Snel en adequaat instellen van maatregelen ten behoeve van infectiepreventie
- 3) Indien typering wordt ingezet is het mogelijk om transmissie van infecties zichtbaar te maken en preventieve maatregelen te initiëren.
- 4) Gedetailleerde surveillance van virale pathogenen is mogelijk in de OGZ

Nadelen Moleculaire diagnostiek

- 1) High throughput diagnostiek vergt een grote mate van standaardisatie waardoor individuele informatie m.b.t. patiënt verloren gaat.
- 2) Panels van meest voorkomende ziekteverwekkers, altijd doelmatig?
- 3) Genuanceerde interpretatie van uitslag ontbreekt vaak wegens high throughput.
- 4) Gebrek aan “*Evidence*” betekenis van “moleculaire” aanwezigheid micro-organisme.
- 5) Epidemiologische informatie kan verloren gaan door de keuze om niet te typeren in de routine diagnostiek.

Virusweek → Moleculair; Consequenties voor de aanvrager

- Vereist dat artsen weten dat de routinediagnostiek niet allesomvattend is
(*wat niet specifiek aangevraagd is, wordt ook niet getest*)



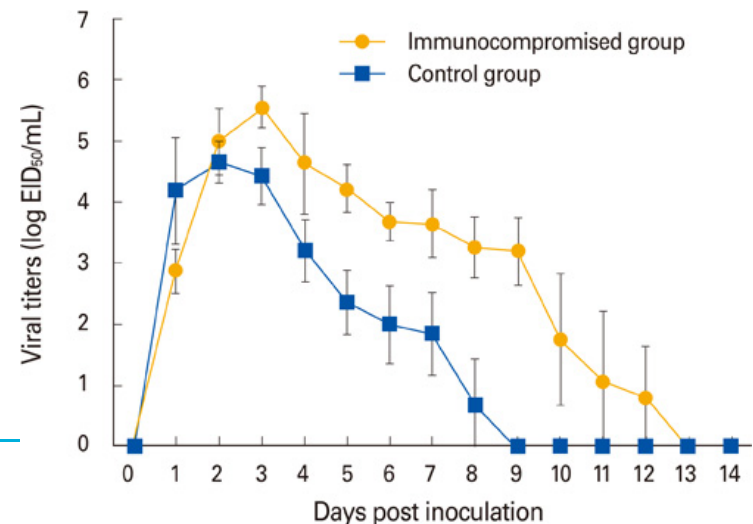
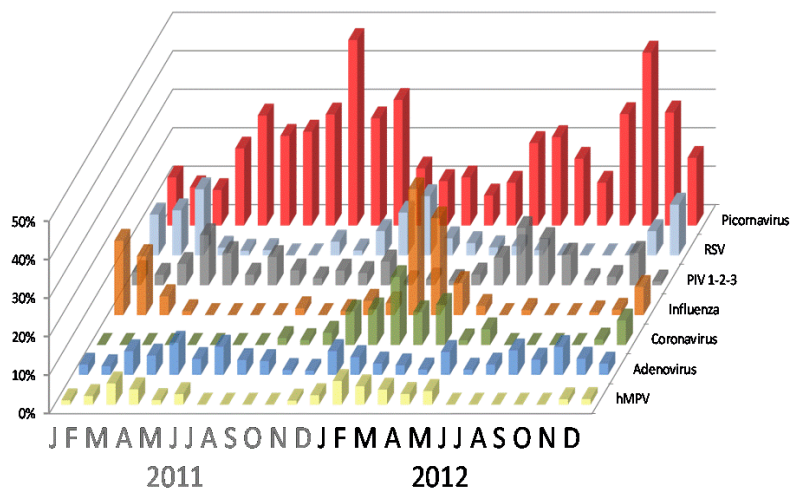
Influenzavirus
RS virus....?

Er is een virus → Microbioloog gaat op zoek naar welk virus. Arts heeft weinig kennis nodig.

Communicatie tussen arts en microbioloog noodzakelijk indien diagnostiekvraag afwijkt van norm

Virusweek → Moleculair; Consequenties voor de microbioloog

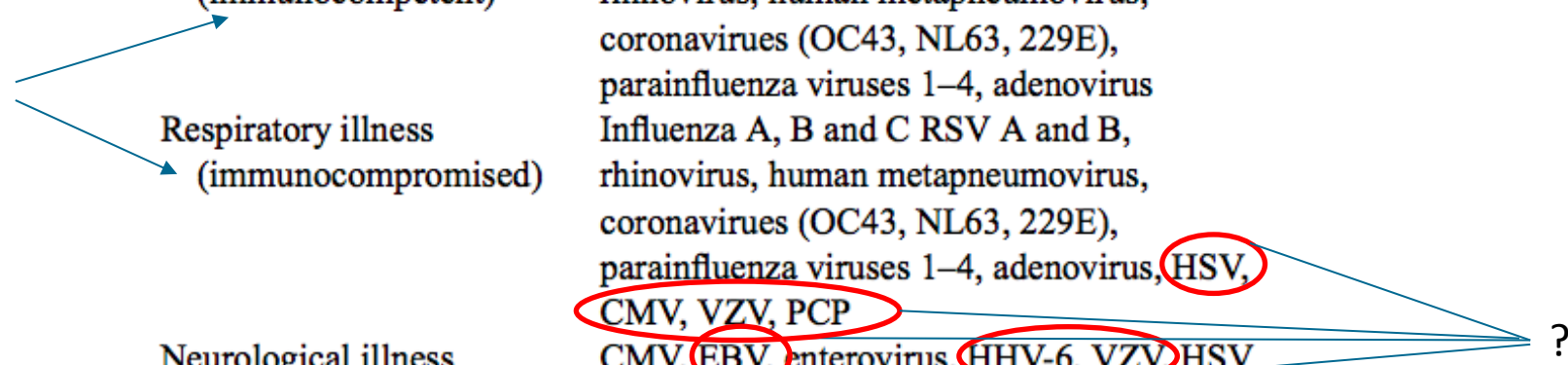
- Vereist een specifiek aanvraagbeleid (*voorgedefinieerde moleculaire targets*)
- Vereist het samenstellen van adequate panels o.b.v. epidemiologie
- Vereist nieuwe wetenschappelijke '*Evidence*' betreffende de relatie tussen moleculaire positiviteit en klinisch beeld
- Vereist actief opzoeken / navragen patiëntengegevens



Standardisatie middels panels

Table 3
Examples of sample led testing “menus”

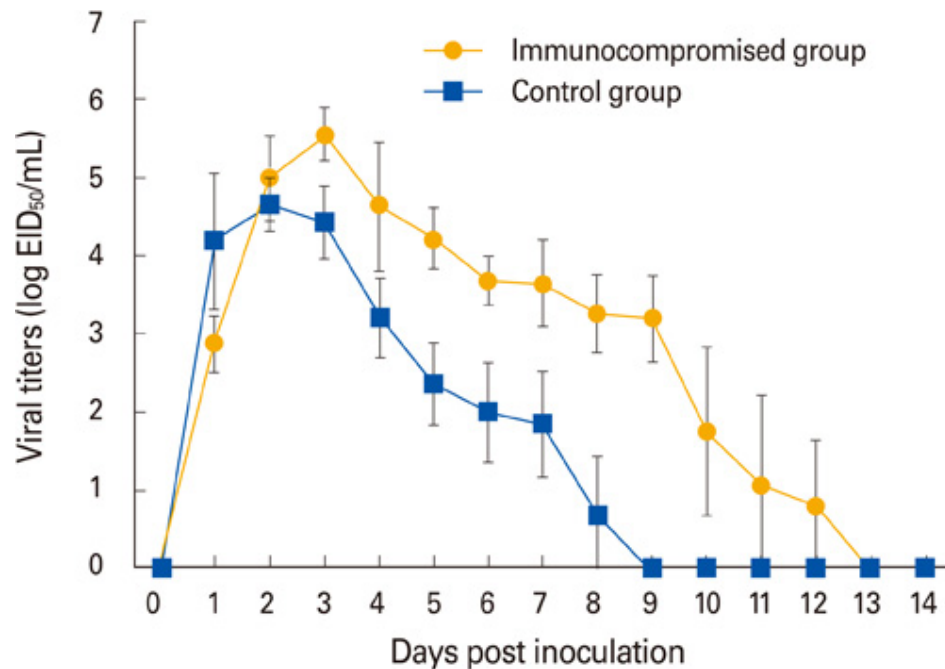
Syndrome	Tests carried out
Gastroenteritis	Norovirus, astrovirus, rotavirus, adenovirus and sapovirus Enterovirus, Parechovirus
Respiratory illness (immunocompetent)	Influenza A, B and C RSV A and B, rhinovirus, human metapneumovirus, coronaviruses (OC43, NL63, 229E), parainfluenza viruses 1–4, adenovirus
Respiratory illness (immunocompromised)	Influenza A, B and C RSV A and B, rhinovirus, human metapneumovirus, coronaviruses (OC43, NL63, 229E), parainfluenza viruses 1–4, adenovirus, HSV , CMV , VZV , PCP
Neurological illness	CMV, EBV , enterovirus, HHV-6 , VZV , HSV (1 and 2)
Infections of the eye	Adenovirus, VZV, HSV and <i>C. trachomatis</i>
Urethritis screen	<i>C. trachomatis</i> , <i>N. gonorrhoeae</i> , <i>M. genitalium</i>



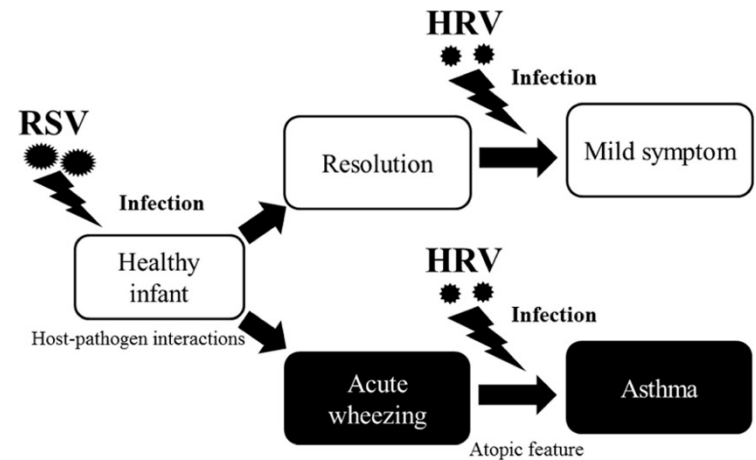
Standardisatie

- Efficiëntie?
 - High throughput, korte turn-around-time.
 - Soms duurder, en soms moeilijk te interpreteren uitslagen.
- Vaak hetzelfde panel ongeacht patiënt
- Soms differentiatie nodig
 - Immuuncompetent
 - Immuungecompromiteerd
 - Leeftijd categorie
 - Reiziger of niet

Belang van patiënten informatie

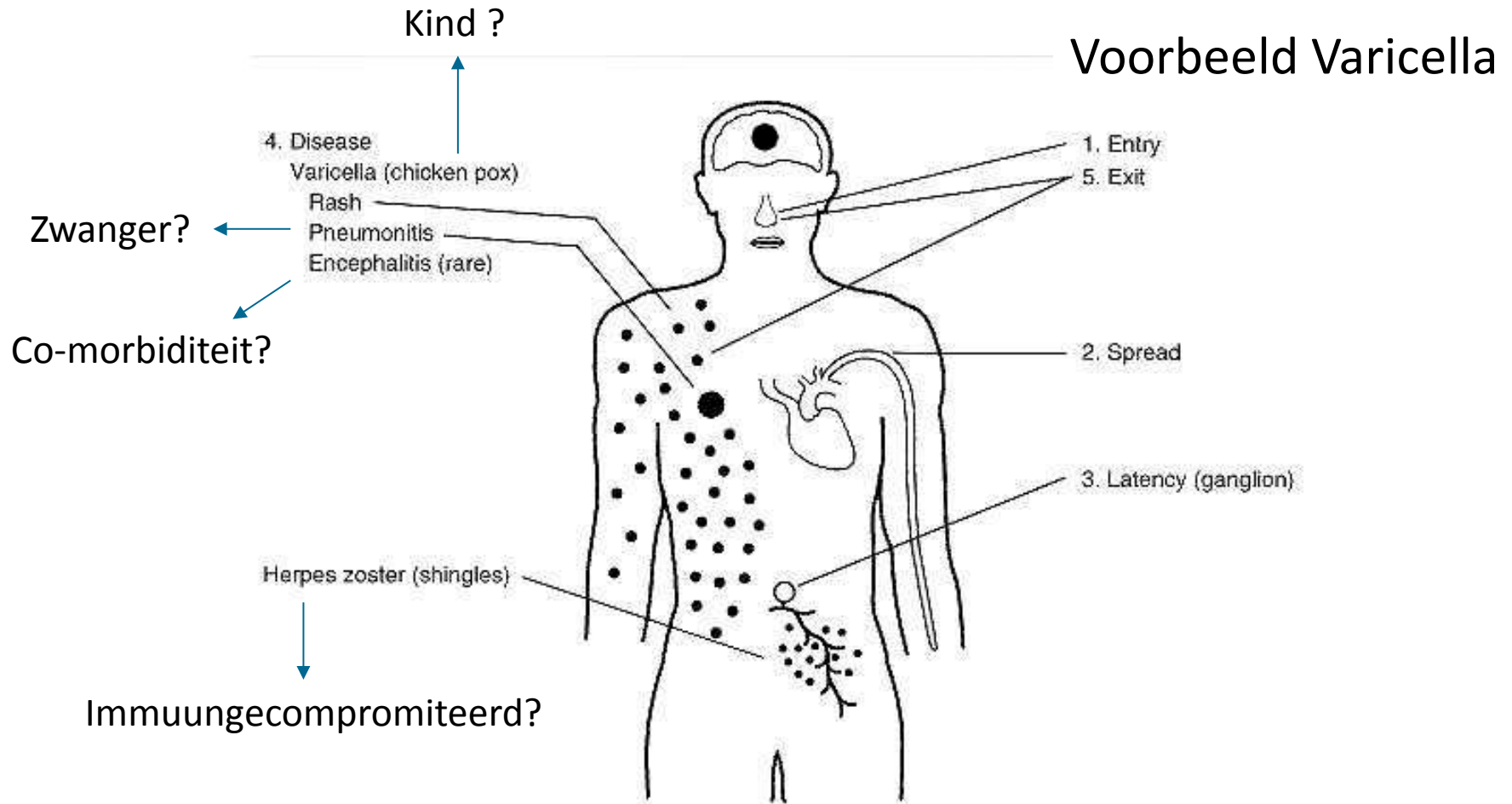


Immuunstatus

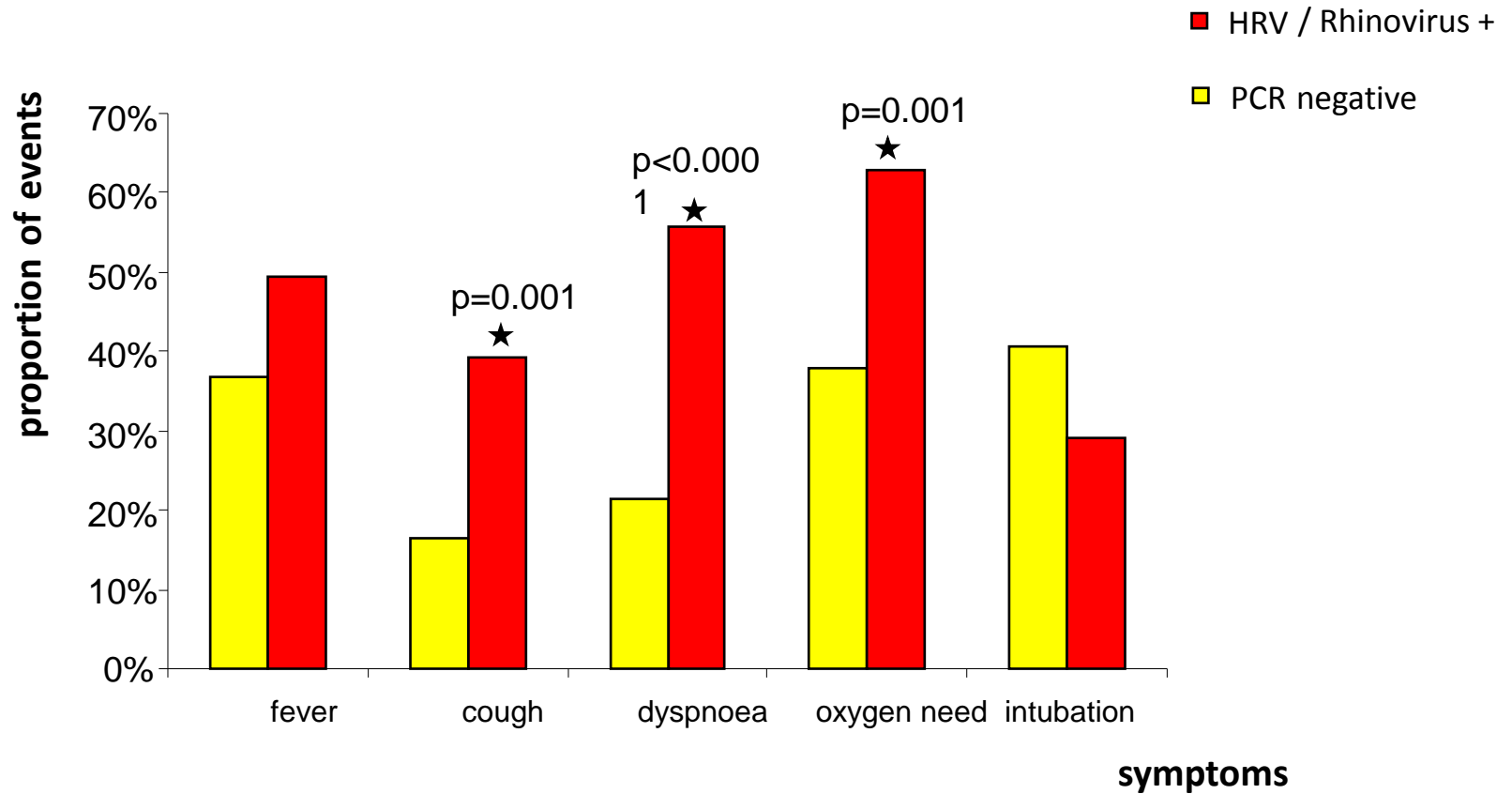


Co-morbiditeit

Nuancering van de uitslag n.a.v. patiëntgegevens



Evidence ?



Rahamat-Langendoen et al. Clin Microbiol Infect. 2013

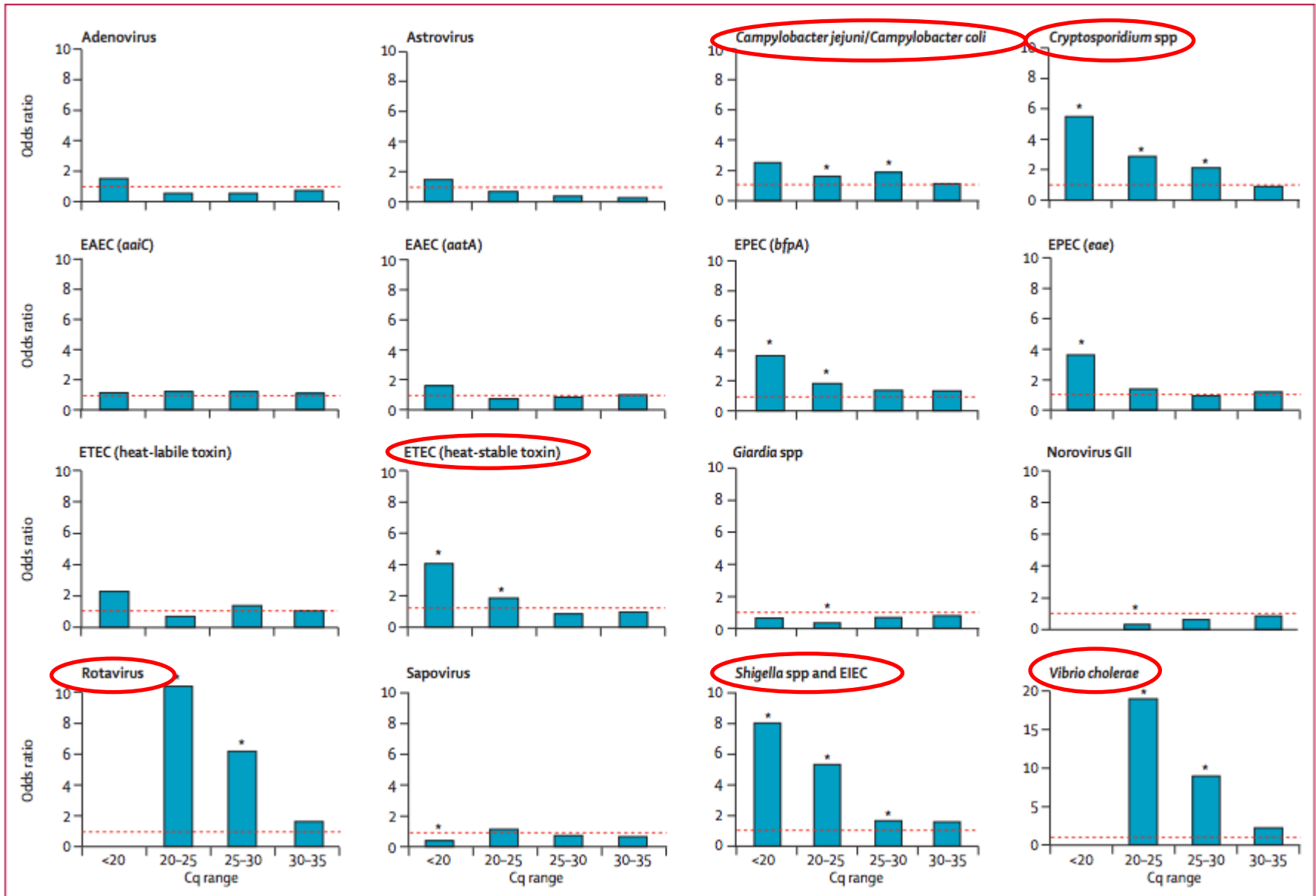
Diarrhoea more mixed GI infections

- 1486 children (867 diarrhoeal and 619 non-diarrhoeal)
- comparator methods (bacterial culture, ELISA, and PCR)
- 3 test platforms (PCR-Luminex, multiplex real-time PCR, and TaqMan array card)

- Comparator methods
 - 1.1 (SD 0.8) pathogens per diarrhoea sample
 - 0.4 (0.7) pathogens per non-diarrhoea sample

- TaqMan array card
 - 2.7 (1.2) pathogens per diarrhoea sample
 - 1.7 (1.2) pathogens per non-diarrhoea sample

Pathogen quantification by TaqMan array card and association with diarrhoea



Development and assessment of molecular diagnostic tests for 15 enteropathogens causing childhood diarrhoea: *Lancet Infect Dis* 2014;

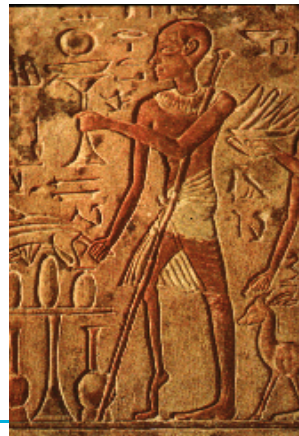
Typeren; klinisch vaak niet relevant, epidemiologisch wel

- Belangrijke epidemiologische en klinische informatie
 - Poliovirus en Enterovirus 68
 - Influenza virus
 - Adenovirus
- Informatie over uitbraken binnen en buiten en buiten het ziekenhuis

Influenza pandemie

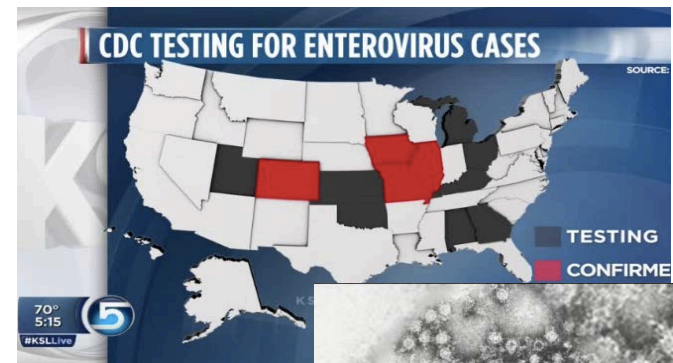


Polio

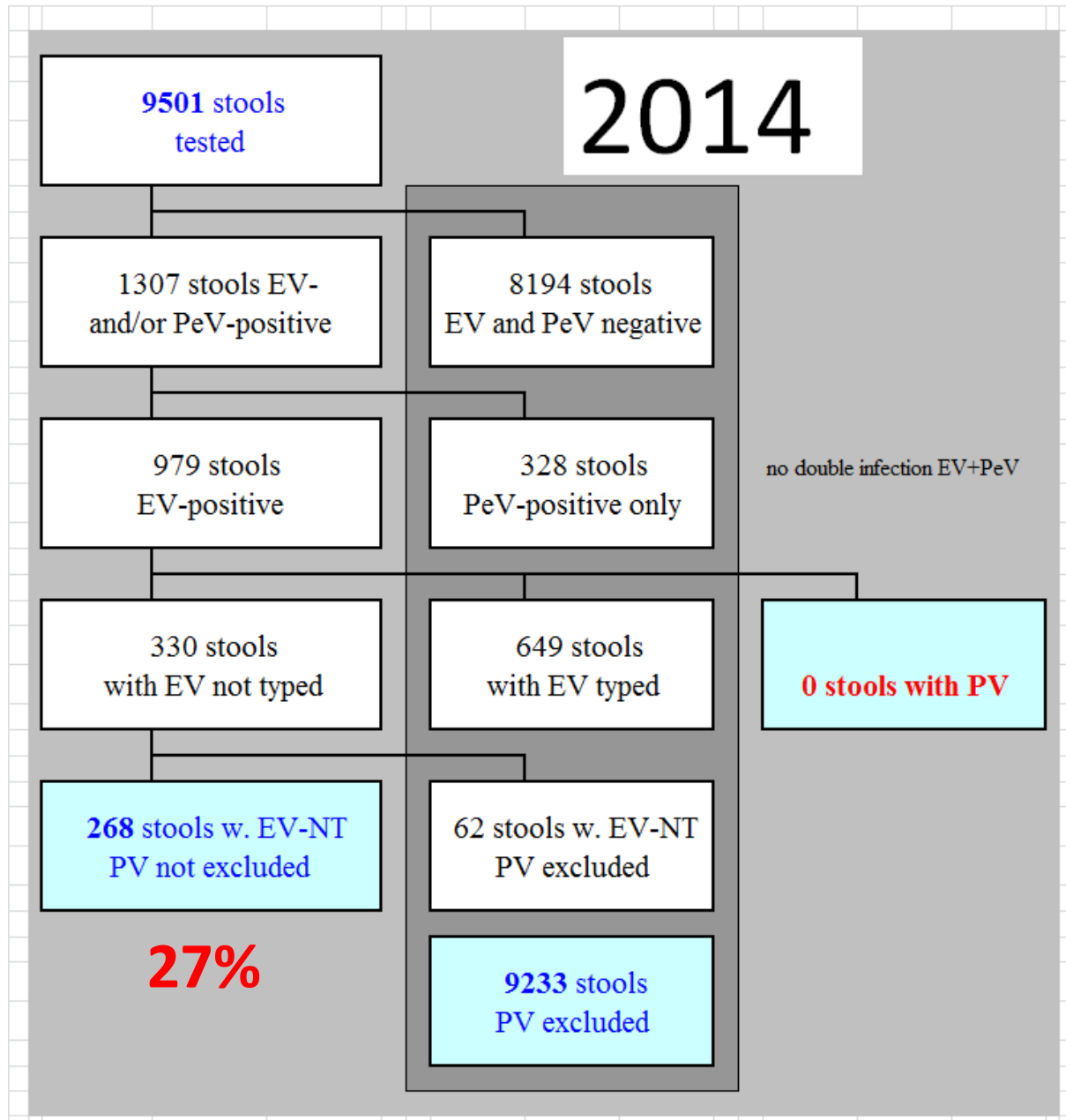


(Egypt 1400 BC)

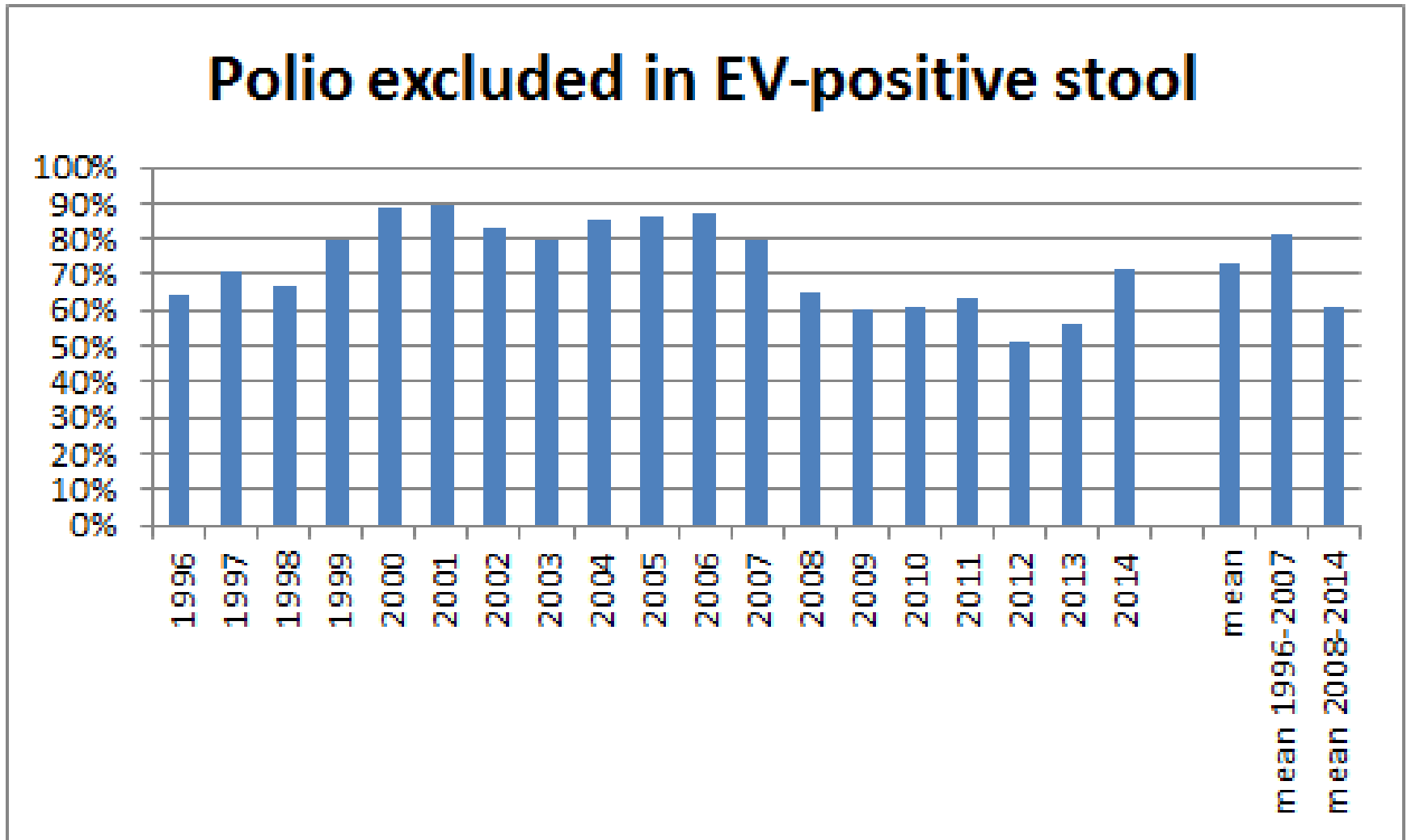
Enterovirus 68



Flowchart of results of testing to exclude polioviruses in stools



*Ter beschikking gesteld door
Harrie van der Avoort
RIVM*



Percentages EV-positive stools for which presence of poliovirus was excluded (1996-2014)

Kwaliteitsrondzendingen

- QCMD → analytische kwaliteit
- UK NEQAS → analytische kwaliteit
- SKML → analytische en klinische kwaliteit

Zijn van groot belang voor het bevorderen van de kwaliteit van laboratorium diagnostiek.

Het is een uitdaging om een controle op interpretatie en klinische adviezen te incorporeren in de kwaliteitsrondzending.

Het is niet evident hoe wij om moeten gaan met het gebrek aan kennis van de klinische betekenis van sommige moleculaire uitslagen.

Testen van klinische sensitiviteit

- **Kernmonster**

= een monster waarvan verwacht mag worden dat daarop een adequate score gehaald moet worden in een standard screening

norm is 100% (2/2)

- **Verdiepingsmonsters**

= een moeilijker monster waarin wat meer uitdaging zit om tot een goed resultaat te komen (verdiepingsmonsters)

Norm afhankelijk van klinische vraagstelling

Nieuwe diagnostische vragen op met betrekking tot medisch handelen

Voorbeeld:

Is het relevant om het Epstein Barr virus op te nemen in een respiratoir diagnostisch panel (2014-VIR-4-Respiratoir)?

Monster	Uitslag	Punten	Norm (max)
E	Geen virus	2	2 (2)
verdieping	EBV	1	

Geen routine vraag, kan niet gestandaardiseerd worden. Kennis over de gastheer van belang
→ Immuun competente gastheer, co- mormiditeit, co-medicatie ?

Vergt communicatie met het lab en een lab met competente artsen.

Doelmatigheid van de diagnostiek kan in het geding komen door gebrek aan communicatie en kennis.

Verdiepingsvragen m.b.t. Herpesvirusdiagnostiek in respiratoire materialen

	Doen jullie diagnostiek?	Methode?	Hoe wordt omgegaan met uitslag?
CMV	Nee 4/21	Moleculair 14/21	Betekenis afhankelijk van patientgegevens 5/21
	Ja, op aanvraag 15/21	Viruskweek 3/21	Alleen relevant in BAL 1/21
	Ja, op materiaal uit BLW 1/21		
	Ja, bij IC/Hemat standard 1/21		
EBV	Nee 11/21	Moleculair 7/21	Alleen relevant in BAL 1/21
	Op aanvraag 2/21		
HSV	Nee 5/21	Moleculair 17/21	Betekenis afhankelijk van patientgegevens 2/21
	Ja, op keelwat 5/21	Viruskweek 2/21	Alleen relevant in BAL 2/21
	Ja, andere materialen op aanvraag 16/21		Advies verdere diagnostiek 5/21
	Ja, bij IC/Hemat standard 1/21		Positieve uitslag wordt doorgegeven 3/21
VZV	Nee 4/21	Moleculair 15/21	Alle positieve uitslagen worden doorgegeven 4/21
	Ja, op aanvraag 14/21	Viruskweek 1/21	Betekenis afhankelijk van patientgegevens 3/21
	Ja, bij IC/Hemat standard 1/21		

Eind conclusie respiratoire rondzending 2014

- Het aantonen van respiratoire virussen die in een consensus panel thuis horen, zoals hMPV en parainfluenzavirus 2, geeft weinig problemen.
 - Diagnostiek verricht op herpesvirussen bij immuungecompromiteerde patienten, levert weinig problemen op.
 - Het aantonen van een mogelijke 'emerging' respiratoir virus zoals EV68, levert een lage score op, ondanks de aandacht voor de uitbraak.
 - De meerderheid van de deelnemers → geen EBV diagnostiek op keelwat. Het bestuur is van mening dat EBV op een keelwat geen zinvolle diagnostiek is bij deze indicatie.
 - Een deelnemer met monsterverwisseling of invoerfout.
 - Mogelijke contaminatie 5x.
 - Foutieve typering 1x.
-
- Het aantonen van virussen die er niet inzitten blijft een probleem. Radboudumc

Toekomst scoren op klinische relevantie?

- Wat wordt er getest per monster?

Laboratorium dat hele batterij onnodige diagnostiek inzet met goede uitslag scoort even goed als lab dat selectief inzet

- Juiste klinische interpretatie?

Wanneer is het vinden van een virus relevant?

Doelstelling sectie Virologie SKML

- Bijdragen aan de kwaliteit van de virologische routine diagnostiek
- Toetsen medisch handelen
- Toetsen doelmatigheid van virologische diagnostiek (zijn panels wel efficiënt?)
- Zichtbaar maken of een laboratorium kan voldoen aan de maatschappelijke verplichting om uitbraken te signaleren.

