

## Disclosure

De spreker heeft

- geen financiële banden met de IVD industrie
- Geen sponsoring door belanghebbende industrie
- Geen honoraria van belanghebbende industrie
- Geen aandeelhouder van belanghebbende industrie
- Geen andere relaties met belanghebbende industrie die gezien kunnen worden als belangenverstrengeling

# Moleculaire diagnostiek naar parasieten; hoe kan EQA dienen als performance check?

Theo Schuurs, MMM

Certe MMB Friesland NOP  
lid namens WMDI / NVMM

Rob Koelewijn

Lisette van Lieshout  
Jaap van Hellemond



[Organisatie](#) ▾

[Secties](#) ▾

[Rondzendingen](#) ▾

[Bepalingen](#) ▾

[Diensten](#) ▾

[Werken bij](#)

## Parasitologie

### Sectie parasitologie

- De Sectie Parasitologie houdt zich bezig met de uitvoering van de rondzendingen ten behoeve van de parasitologische diagnostiek.

### Rondzendingen

[Acanthamoeba Extern. Mol. Quality Assessment](#)

[Bloedparasieten](#)

[Darm-, weefsel- en ectoparasieten](#)

[Darmprotozoa Moleculaire Diagnostiek](#)

[Helminth External Mol. Quality Assessment](#)

[SOA moleculaire diagnostiek](#)

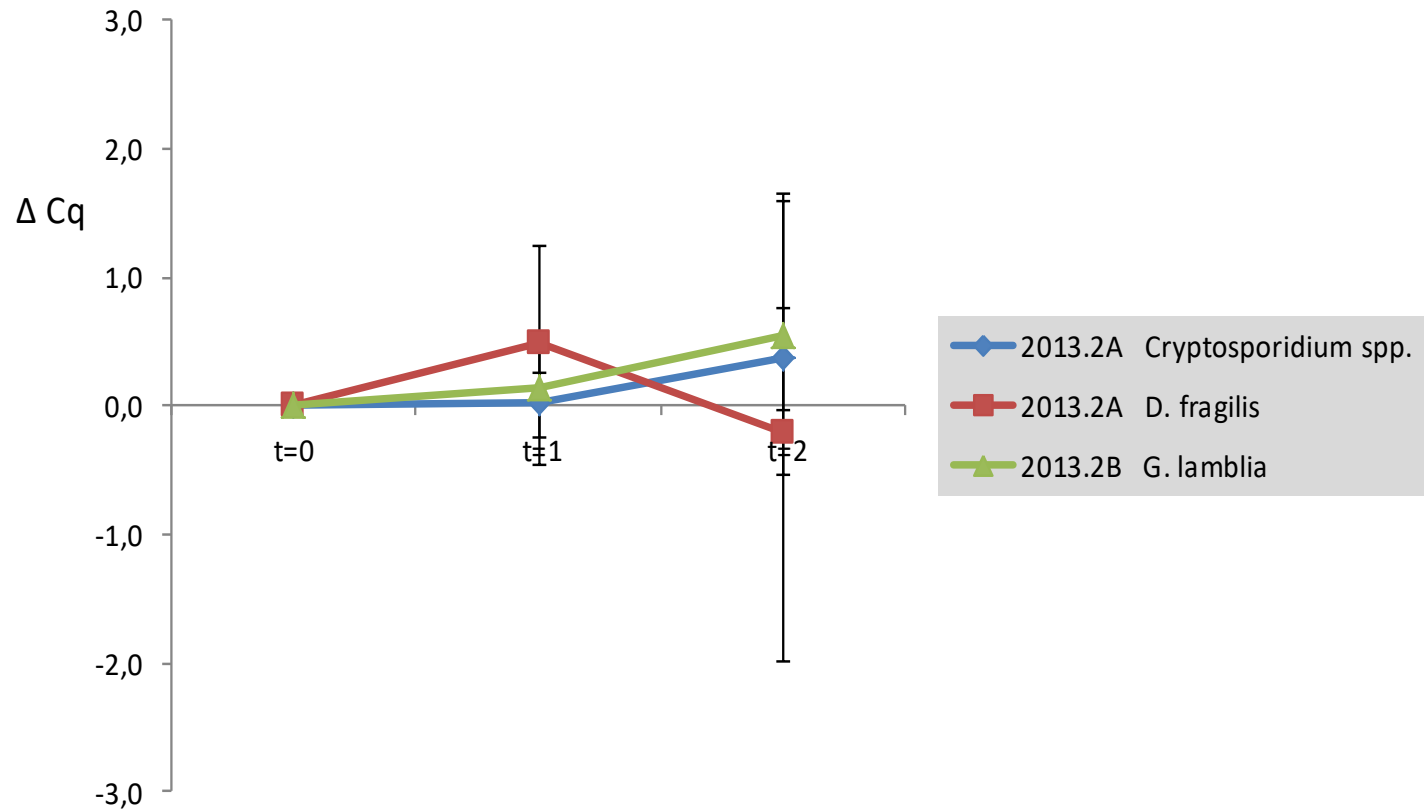
# 2013: introductie panel darmprotozoa voor Mdx

## Karakteristieken rondzending darmprotozoa:

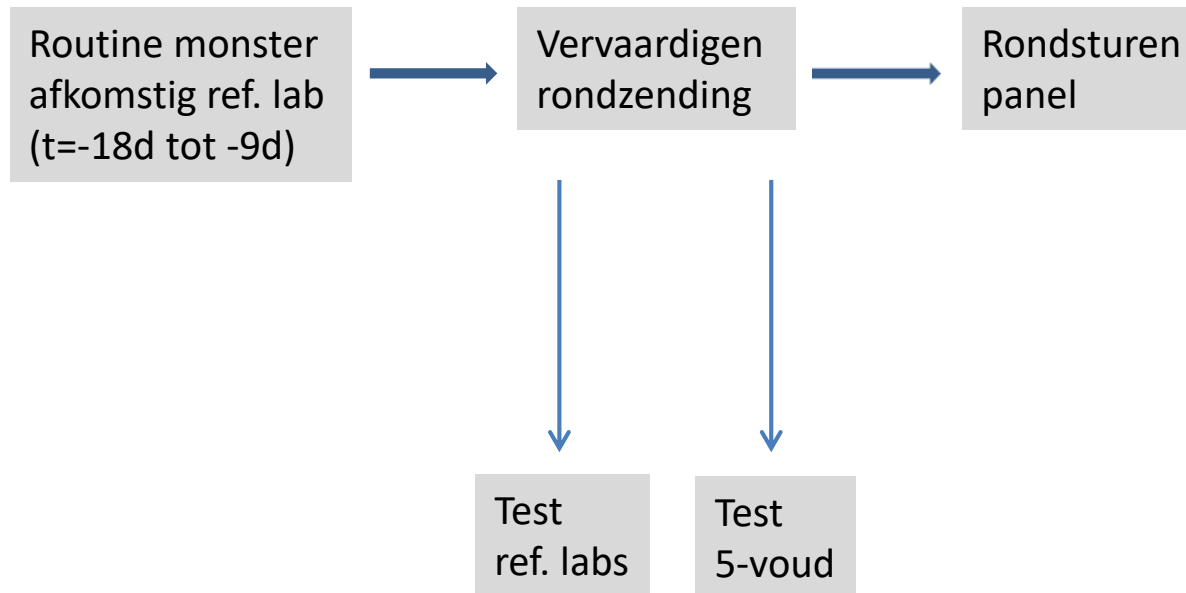
- protozoa in klinisch materiaal (feces) (=uniek!)
- hoge kwaliteit: reproduceerbare en stabiele monsters
- 3x per jaar 3 à 4 monsters



# Stabiliteit monsters (na 14 dagen kamertemp.)



# Workflow monsters moleculair panel (SKML-parasitologie)



# nadere analyse prestaties deelnemende laboratoria

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

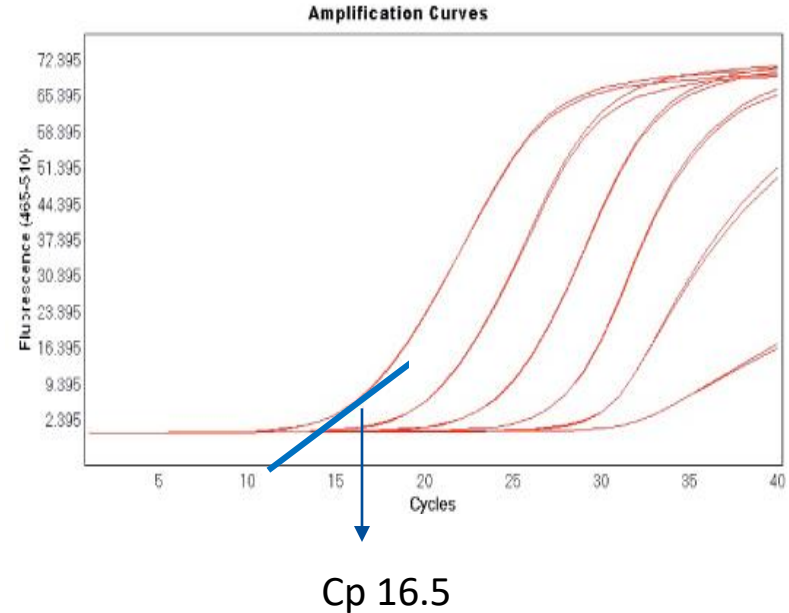
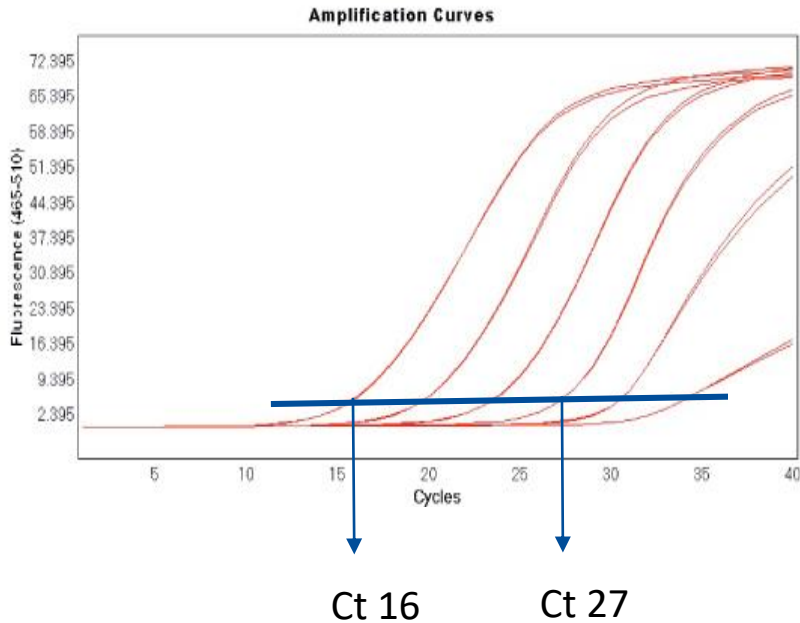
DE GRUYTER

Theo A. Schuurs<sup>a</sup>, Rob Koelewijn, Eric A.T. Brienen<sup>a</sup>, Titia Kortbeek<sup>a</sup>, Theo G. Mank<sup>a</sup>, Bert Mulder<sup>a</sup>, Foekje F. Stelma<sup>a</sup>, Lisette van Lieshout<sup>a</sup> and Jaap J. van Hellemond<sup>a,\*</sup>

## **Harmonization of PCR-based detection of intestinal pathogens: experiences from the Dutch external quality assessment scheme on molecular diagnosis of protozoa in stool samples**



# Ct, Cp en Cq waarden



Cq waarde = verzamelnaam voor Cp en Ct

Cq > 35 : zeer lage load, spoortjes DNA  
30 < Cq < 35 : lage load  
20 < Cq < 30 : “gemiddelde load”  
Cq < 20 : zeer hoge load



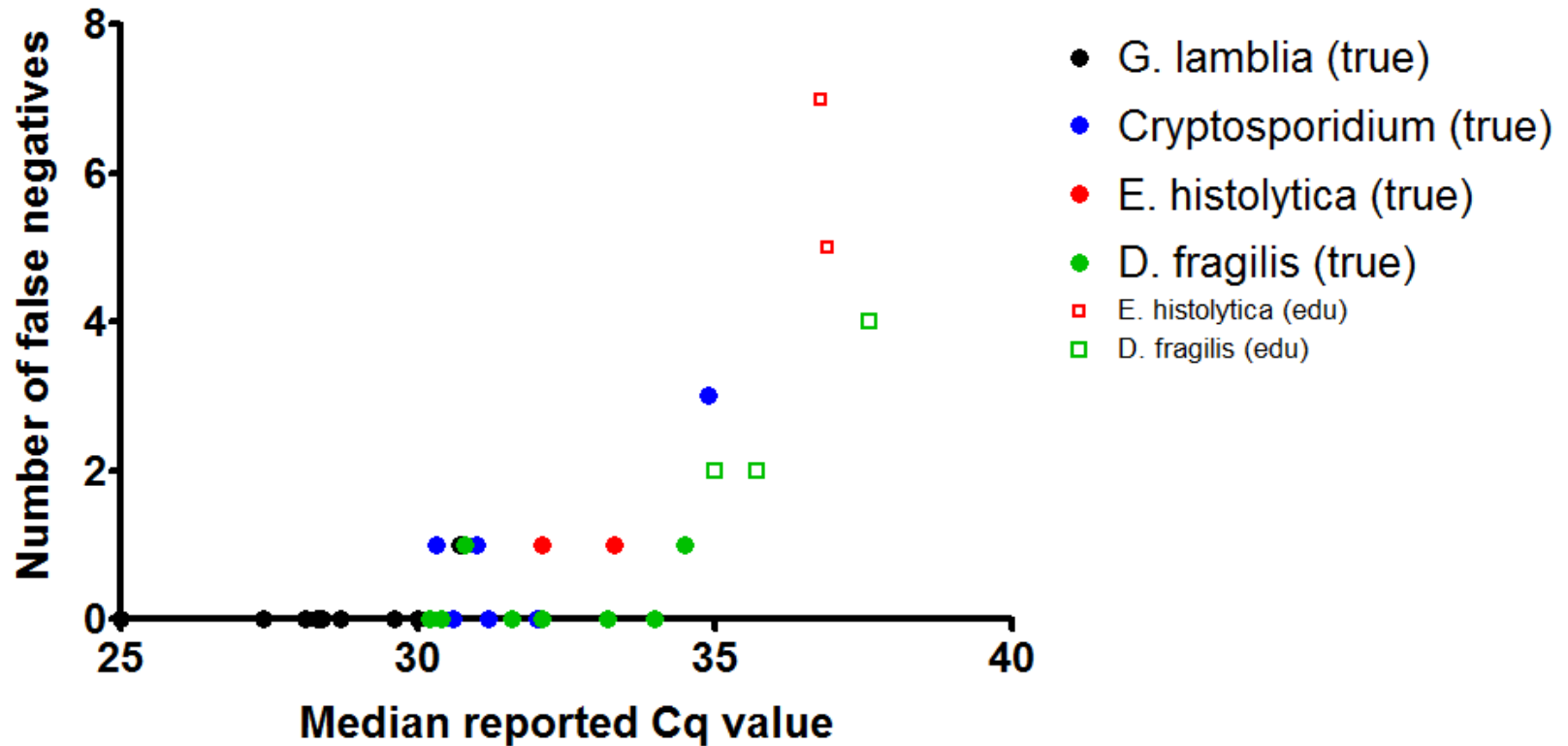
# sensitiviteit (%) 2013-2022

	<i>Giardia lamblia</i>		<i>Cryptosporidium spp</i>		<i>Entamoeba histolytica</i>		<i>Dientamoeba fragilis</i>	
		N		N		N		N
<b>2013</b>	<b>99</b>	85	<b>92</b>	38	<b>77</b>	26	<b>n.d.</b>	-
<b>2014</b>	<b>96</b>	84	<b>100</b>	54	<b>83</b>	52	<b>98</b>	48
<b>2015</b>	<b>99</b>	85	<b>96</b>	57	<b>97</b>	29	<b>100</b>	73
<b>2016</b>	<b>97</b>	119	<b>100</b>	30	<b>85</b>	61	<b>99</b>	80
<b>2017</b>	<b>97</b>	216	<b>100</b>	61	<b>100</b>	32	<b>100</b>	121
<b>2018</b>	<b>100</b>	97	<b>92</b>	64	<b>97</b>	100	<b>96</b>	52
<b>2019</b>	<b>96</b>	97	<b>98</b>	63	<b>97</b>	69	<b>93</b>	102
<b>2020</b>	<b>98</b>	85	<b>100</b>	85	<b>100</b>	58	<b>98</b>	66
<b>2021</b>	<b>98</b>	121	<b>100</b>	63	<b>83</b>	65	<b>88</b>	21
<b>2022</b>	<b>100</b>	90	<b>97</b>	92	<b>93</b>	30	<b>95</b>	43



N = number of reported results (participants on samples)

# Relatieve load en fout-negatieve resultaten



relatieve load

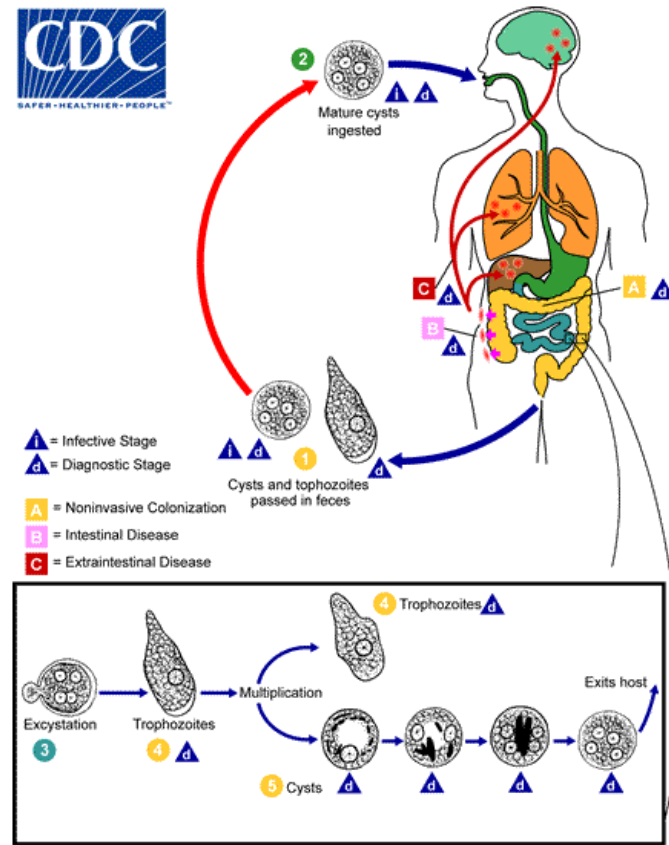
# relatieve load diarreeverwekkers Izore (2012- 2016)

	<b><i>G.lamblia</i></b>	n	<b><i>Cryptosp. spp.</i></b>	n	<b><i>E.histolytica</i></b>	n	<b><i>D.fragilis</i>*</b>	n
gemiddelde Cp waarde	<b>27.8</b>	929	<b>31.5</b>	401	<b>31.0</b>	17	<b>26.7</b>	80

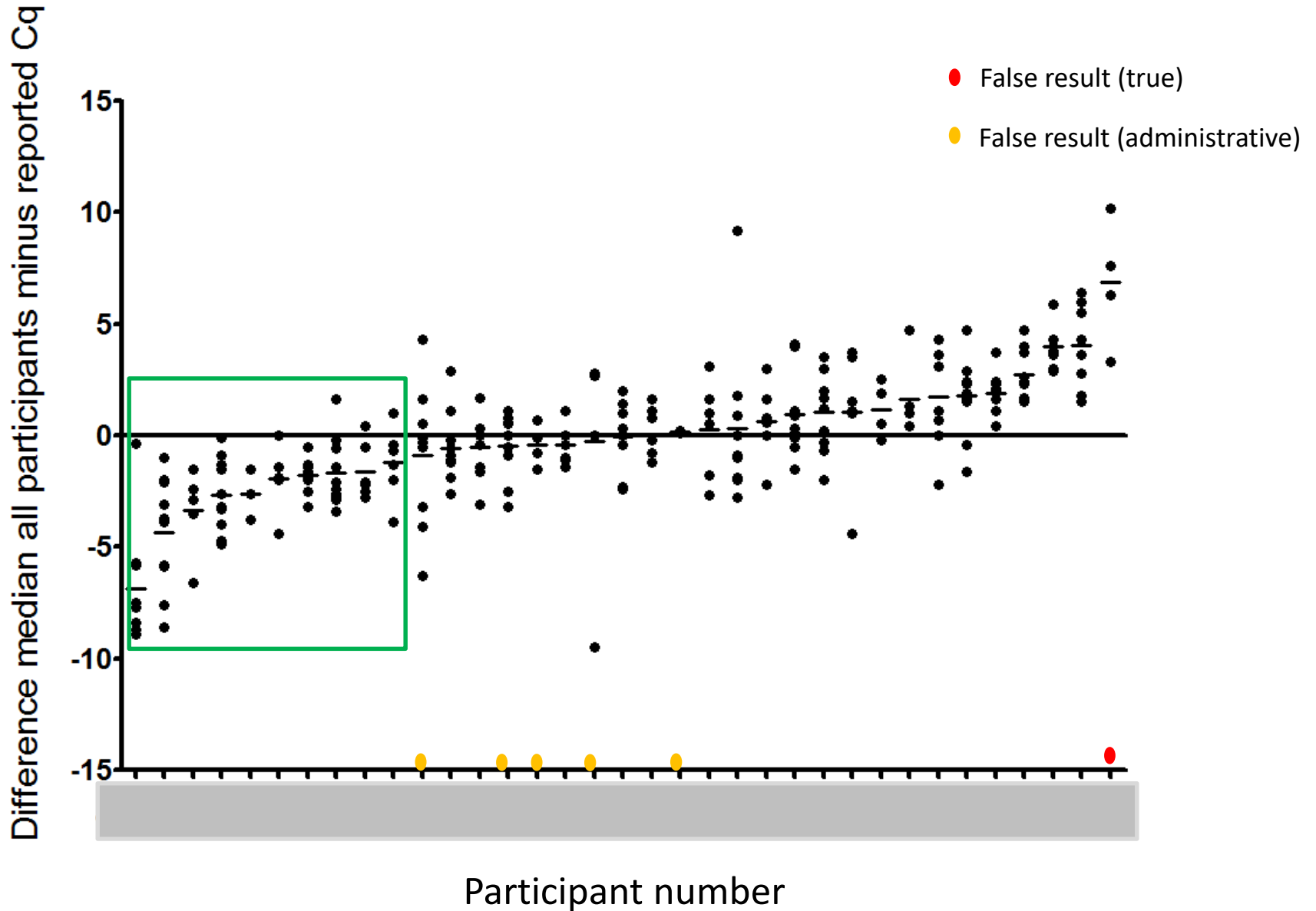
\* *D.fragilis*: alleen 2016

# *E. histolytica* levenscyclus

## Life Cycle



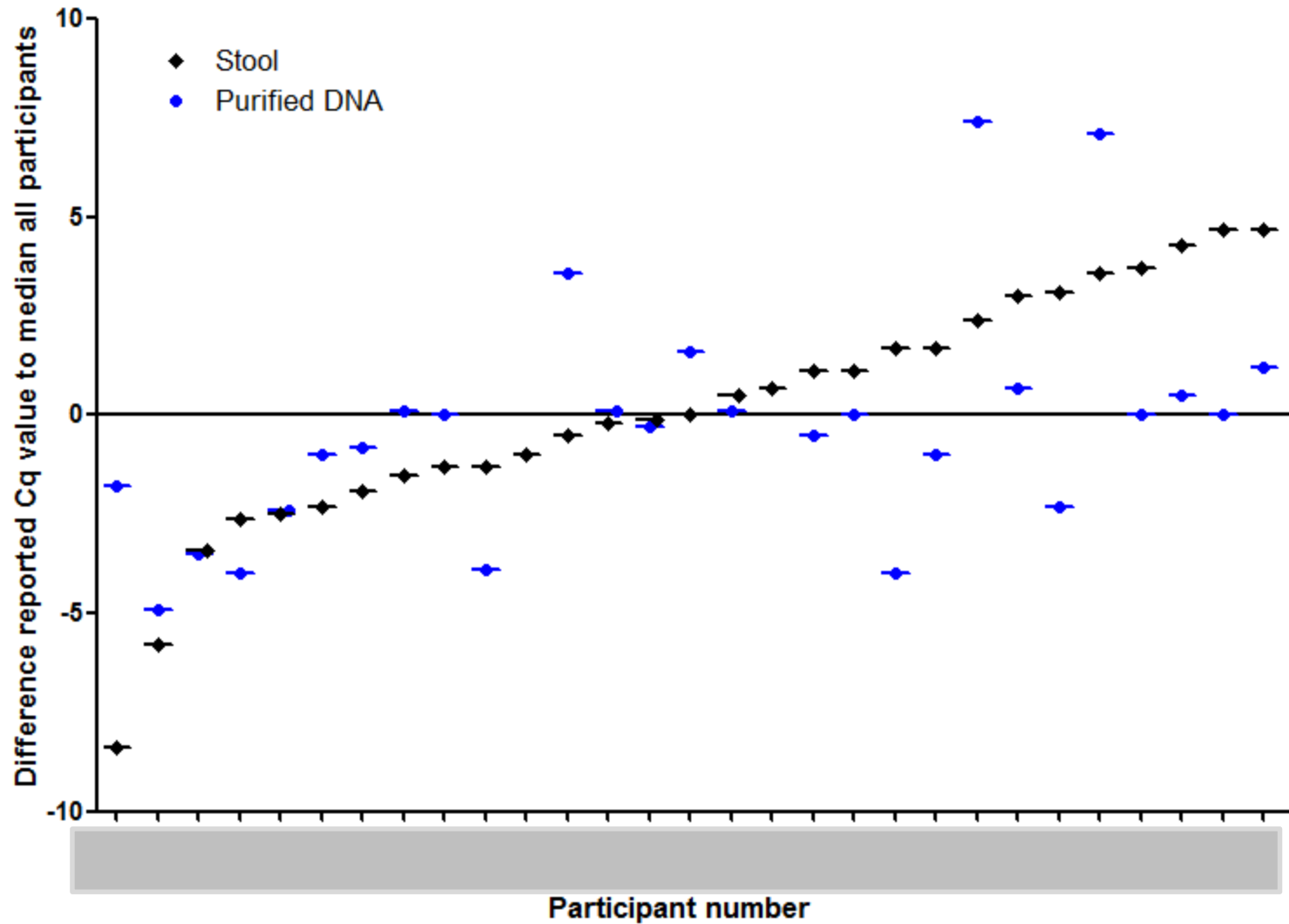
# Cq waarden *G.lamblia* per laboratorium, 2013-2015



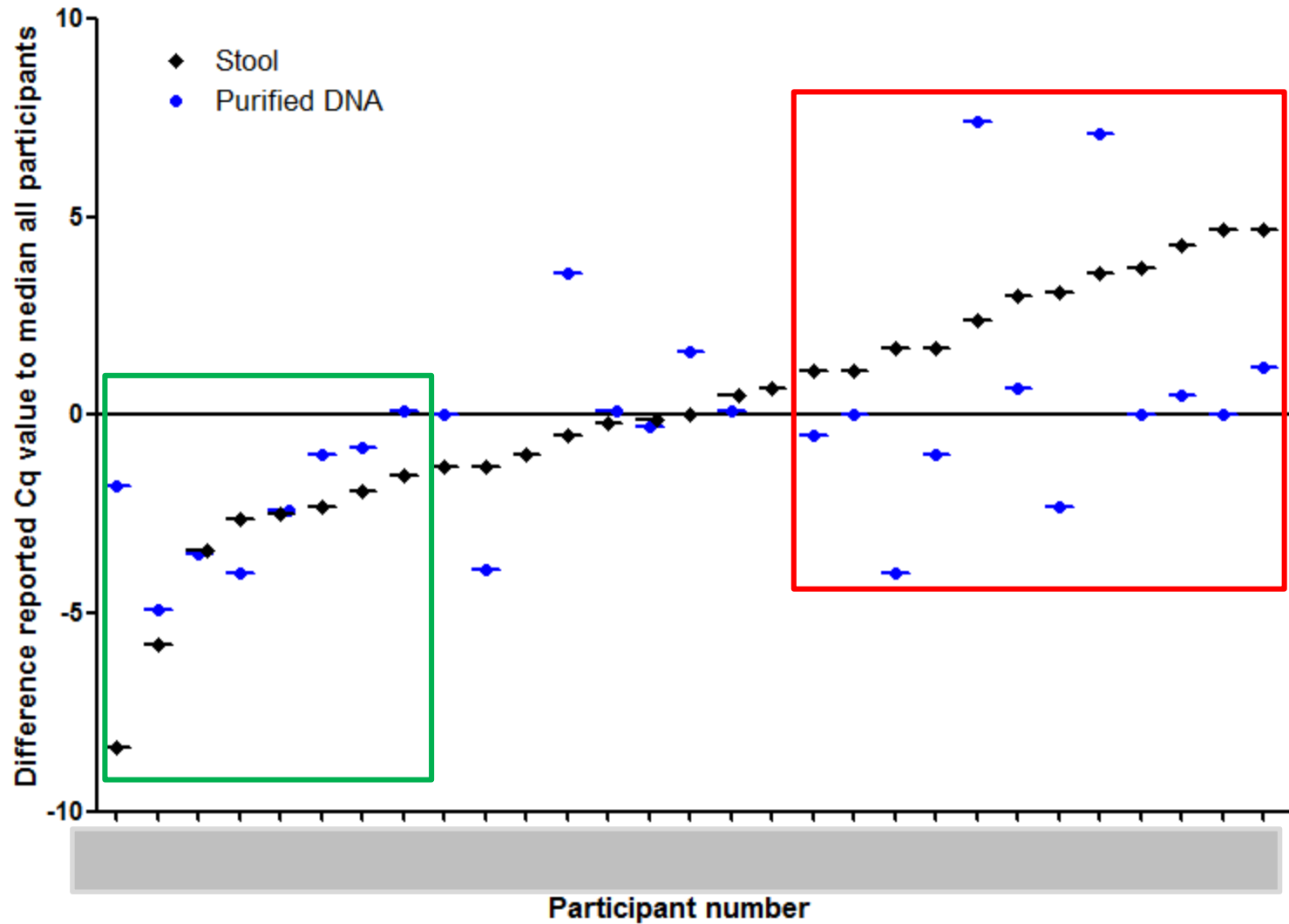
# Werkwijze moleculaire diagnostiek intestinale parasieten



# *G.lamblia* uitslagen feces en gezuiverd DNA



# *G.lamblia* uitslagen feces en gezuiverd DNA

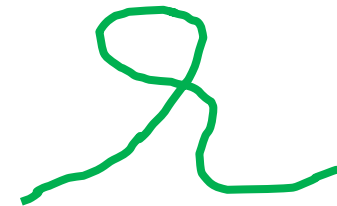




# Werkwijze moleculaire diagnostiek intestinale parasieten



*G.lamblia* :



# Werkwijze moleculaire diagnostiek intestinale parasieten

voorbehandeling  
feces

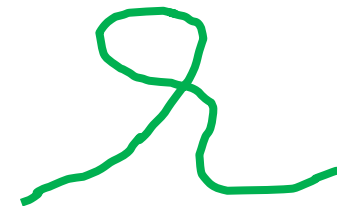
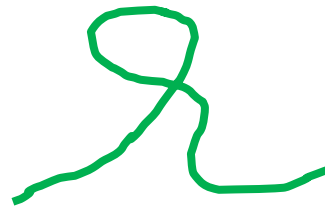


DNA  
isolatie



target  
amplificatie

*G.lamblia* :



# Verdiepingsvragen voorbehandeling feces

Verdiepingsvragen voorbehandeling feces:

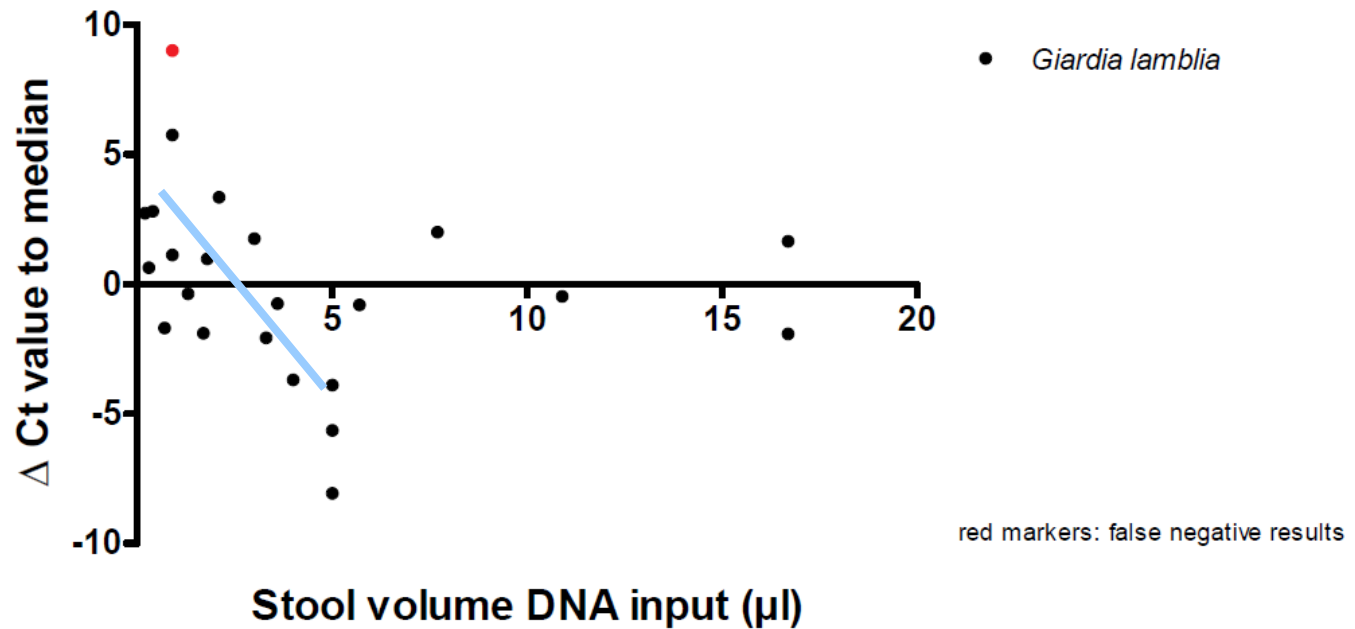
- toevoegen lysisbuffer voor DNA isolatie?
- vries-dooi stap?
- overige voorbehandelingsstappen?
- volume feces in PCR



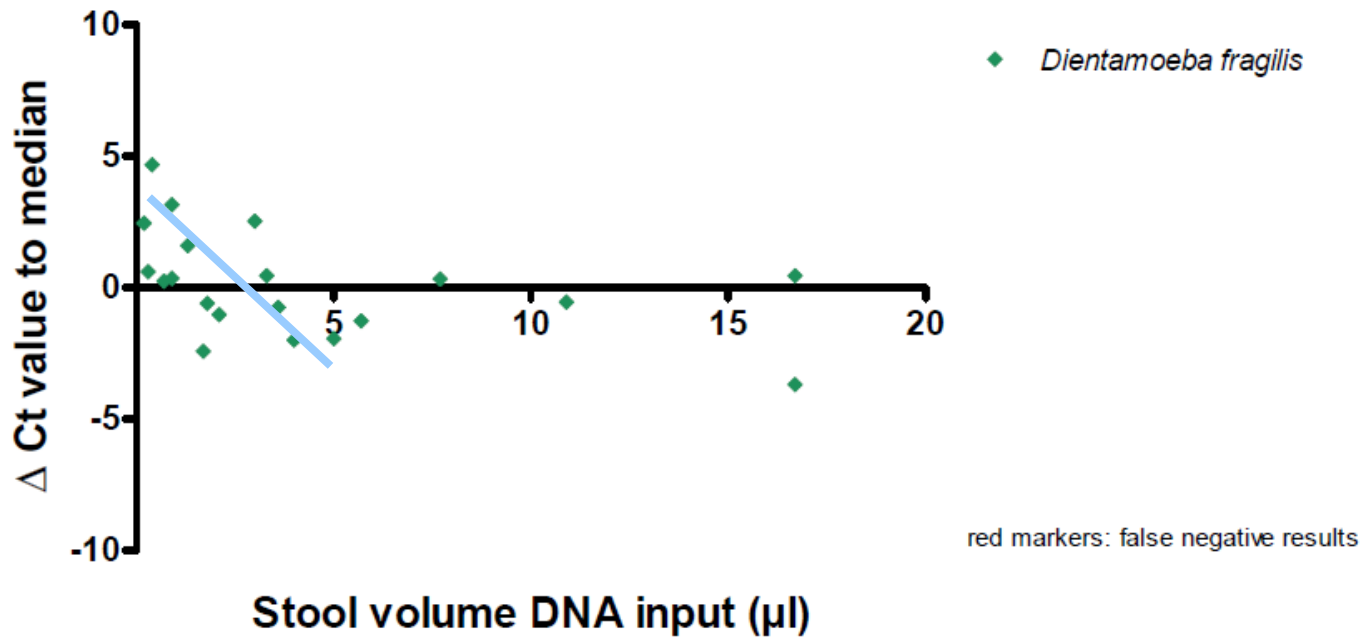
# Verdiepingsvragen voorbehandeling feces

Andere manier voor behandeling DNA-extract	extra "of-board" proteolyse behandeling	lysisbuffer toevoegen voorafgaande aan DNA extractie	Vries-dooi cyclus	Volume feces in PCR
ja	nee	ja	ja	0,2
nee	nee	ja	ja	0,3
nee	ja	ja	nee	0,4
nee	nee	ja	ja	0,7
nee	nee	ja	nee	0,9
nee	nee	ja	ja	0,9
nee	nee	ja	ja	1,3
nee	nee	ja	ja	1,7
nee	nee	ja	ja	1,8
ja	nee	ja	nee	2,1
nee	nee	ja	nee	3
nee	nee	ja	ja	3,3
ja	nee	ja	ja	3,6
ja	nee	ja	nee	4
nee	nee	nee	nee	5
nee	nee	ja	ja	5
nee	nee	nee	ja	5
nee	nee	ja	nee	5,7
nee	nee	ja	nee	7,7
nee	nee	ja	ja	10,9
ja	nee	nee	nee	16,7
nee	nee	ja	ja	16,7

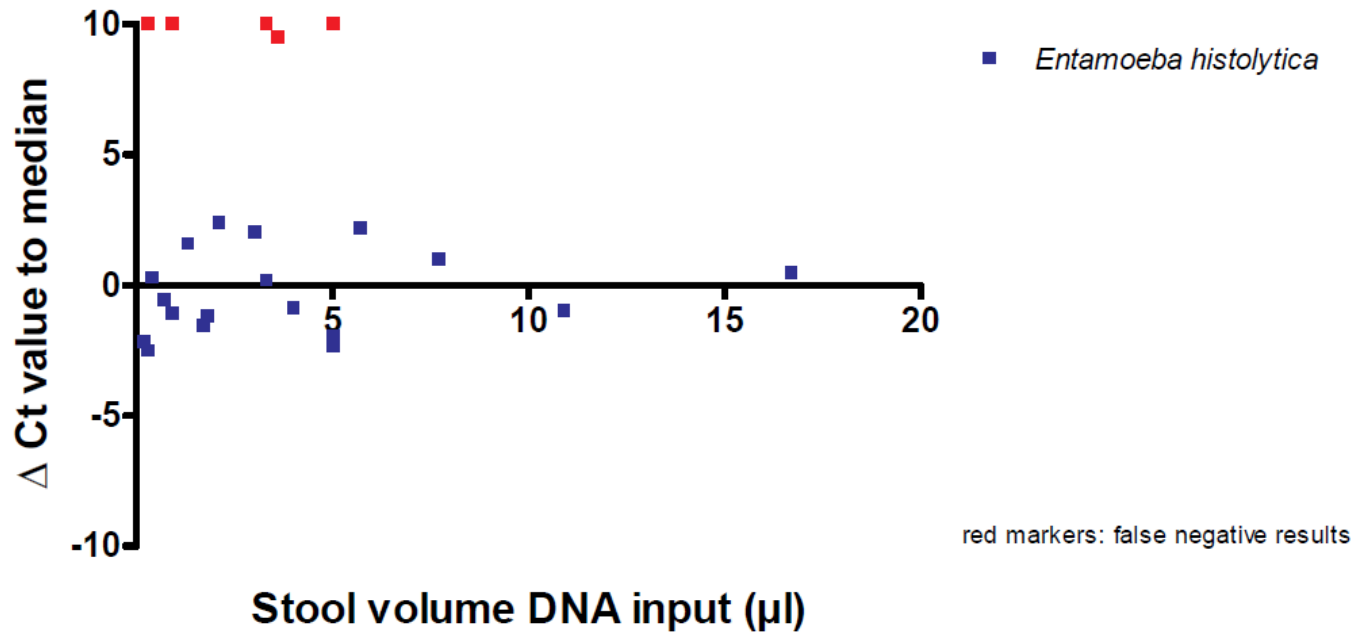
# *G.lamblia* : input PCR



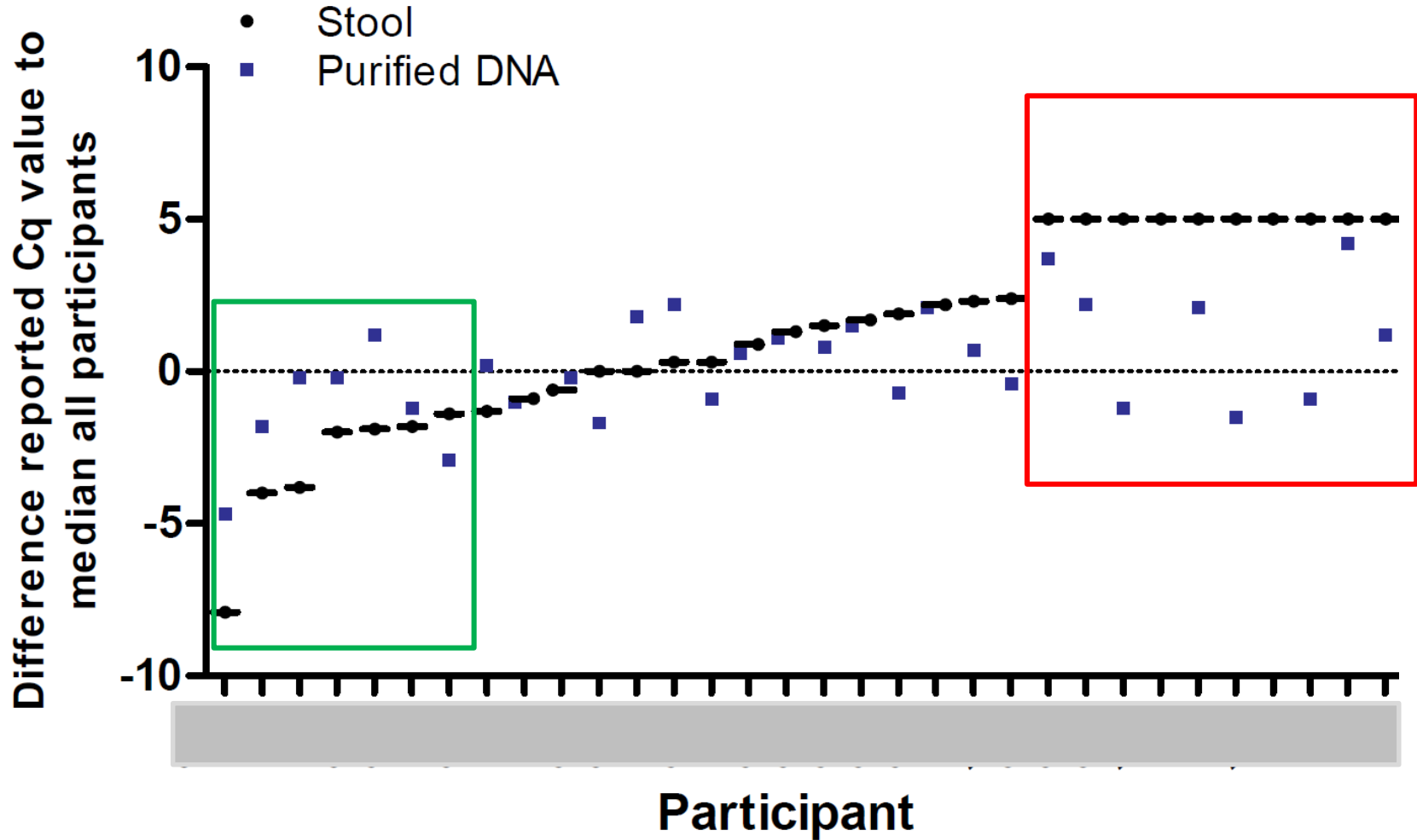
# *D. fragilis* : input PCR



# *E. histolytica* : input PCR

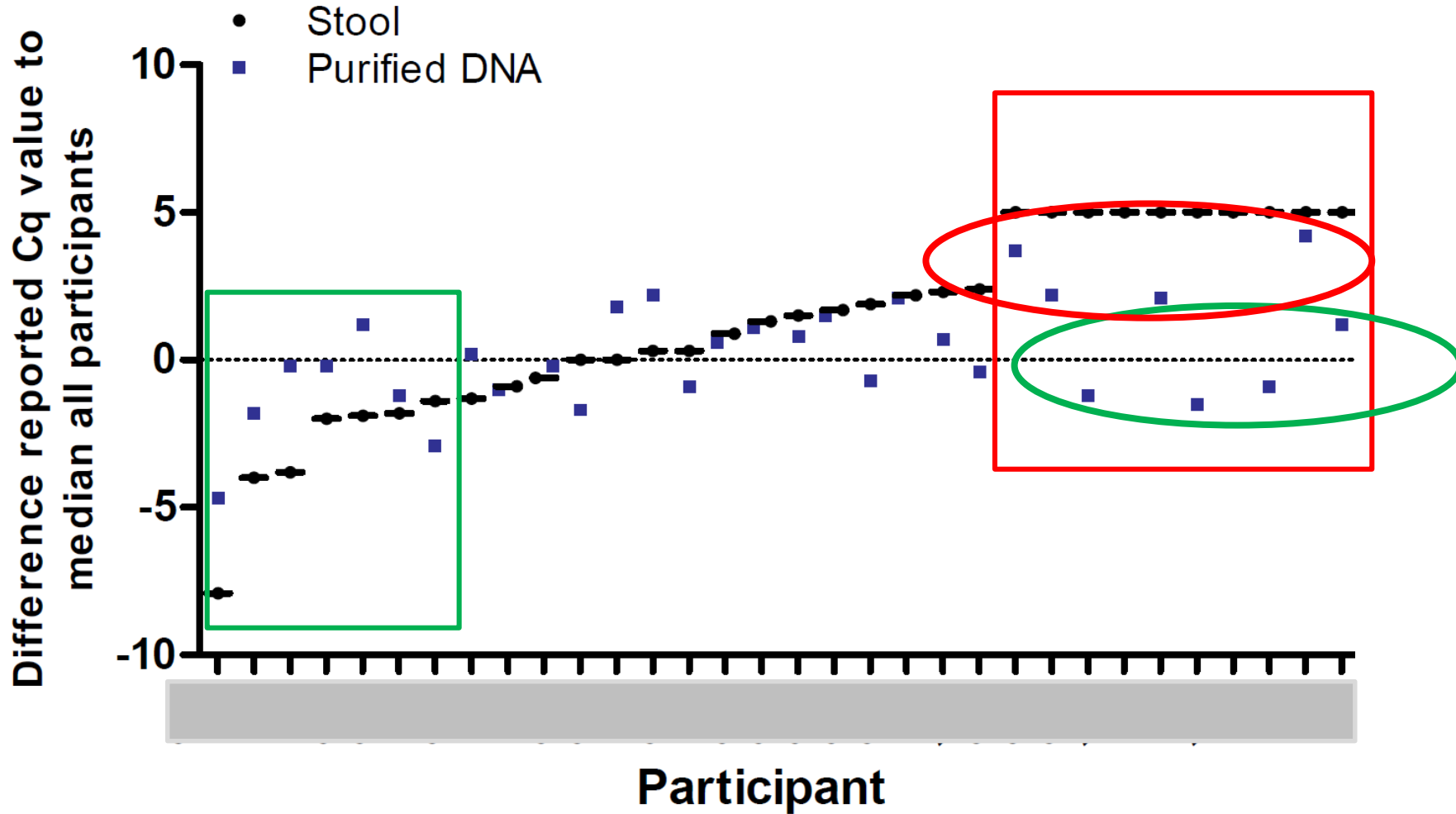


# *E. histolytica* uitslagen feces en gezuiverd DNA





# *E. histolytica* uitslagen feces en gezuiverd DNA



# Samenvattend: moleculaire rondzendingen feces protozoa

- enorme variatie in gerapporteerde Cq waarden
- laboratoria met lage Cq waarden rapporteren minder fout-negatieven
- matige labscores zijn individueel terug te voeren op verminderd sensitieve PCR en/of DNA isolatie (incl. voorbehandeling)
- *Giardia*: matige labscores gerelateerd aan verminderde input in PCR
- *E.histolytica*: variabel beeld, individuele oorzaken van matige scores



## Samenvattend: moleculaire rondzendingen feces protozoa

- enorme variatie in gerapporteerde Cq waarden
- laboratoria met lage Cq waarden rapporteren minder fout-negatieven
- matige labscores zijn individueel terug te voeren op verminderd sensitieve PCR en/of DNA isolatie (incl. voorbehandeling)
- *Giardia*: matige labscores gerelateerd aan verminderde input in PCR
- *E.histolytica*: variabel beeld, individuele oorzaken van matige scores

**Neem contact op voor individuele lab-specifieke resultaten!**



## EQAS *Schistosoma* and soil-transmitted Helminths

- Helminths: parasitaire wormen
- Infectie vindt plaats via de bodem
- Veel voorkomend in warm, vochtig klimaat en slechte hygiënische omstandigheden
- vooral een groot probleem in laag-inkomen landen/regionen



## EQAS *Schistosoma* and soil-transmitted Helminths

- HEMQAS sinds 2018
- *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichura*, *Necator americanus*, *Ancylostoma duodenale/ceylanicum*, *Strongyloides stercoralis*, *Schistosoma*
- internationaal deelnemersveld
- daarmee uitdagingen (stabiliteit in feces)



# EQAS *Schistosoma* and soil-transmitted Helminths

PLOS NEGLECTED TROPICAL DISEASES

---

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 Cools<sup>1</sup>, Lisette van Lieshout<sup>2,3</sup>, Rob Koelewijn<sup>3,4</sup>, David Addiss<sup>5</sup>, Sitara S. R. Ajjampur<sup>6</sup>, Mio Ayana<sup>7</sup>, Richard S. Bradbury<sup>8</sup>, Jason L. Cantera<sup>9</sup>, Daniel Dana<sup>7</sup>, Kerstin Fischer<sup>10</sup>, Rubina Imtiaz<sup>11</sup>, Joyce Kabagenyi<sup>12</sup>, James Lok<sup>13</sup>, James McCarthy<sup>14</sup>, Rojelio Mejia<sup>15</sup>, Zeleke Mekonnen<sup>7</sup>, Sammy M. Njenga<sup>16</sup>, Nurulhasanah Othman<sup>17</sup>, Hongguang Shao<sup>13</sup>, Rebecca Traub<sup>18</sup>, Marjan Van Esbroeck<sup>19</sup>, Jozef Vercruysse<sup>1</sup>, Johnny Vlaminck<sup>1</sup>, Steven A. Williams<sup>20,21</sup>, Jaco J. Verweij<sup>22</sup>, Jaap J. van Hellemond<sup>3,4</sup>, Bruno Levecke<sup>1\*</sup>



---

PLOS Neglected Tropical Diseases | <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008231> June 16, 2020

1 / 19

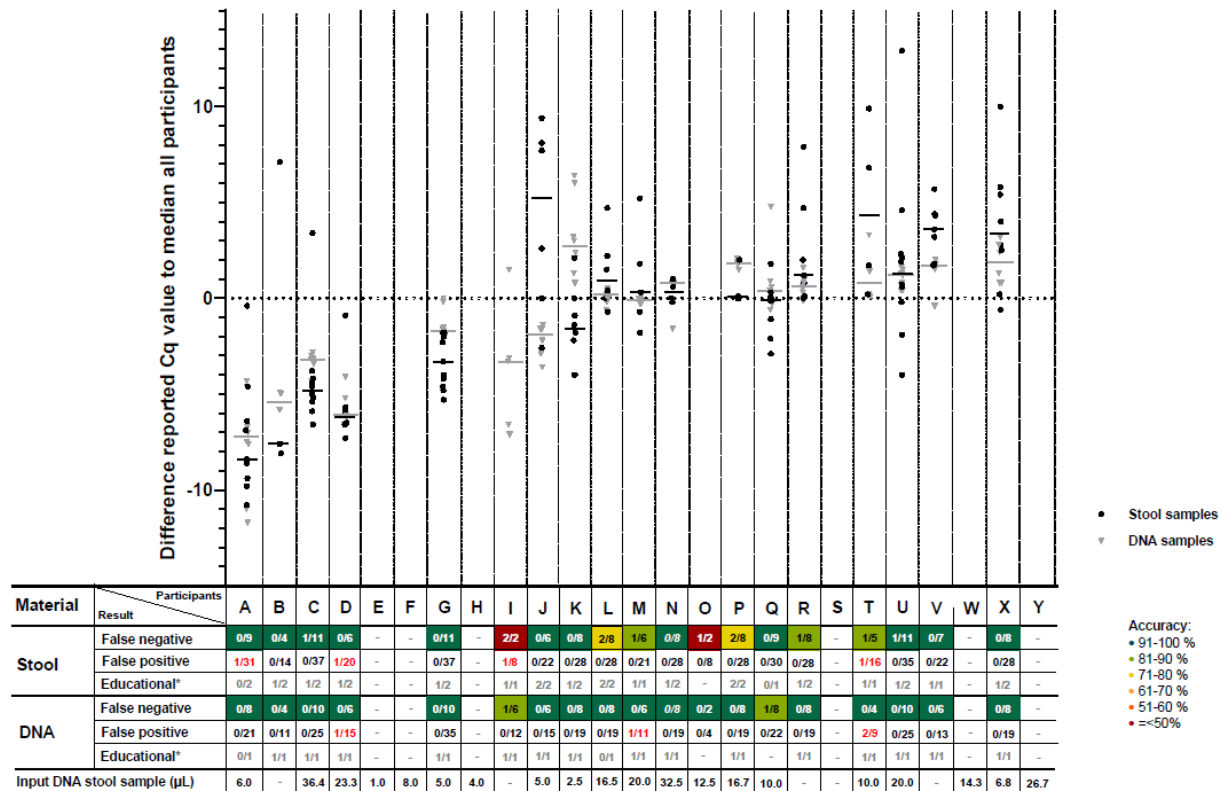


Stichting Kwaliteitsbewaking  
Medische Laboratoriumdiagnostiek

Sectie Parasitologie

# EQAS *Schistosoma* and soil-transmitted Helminths

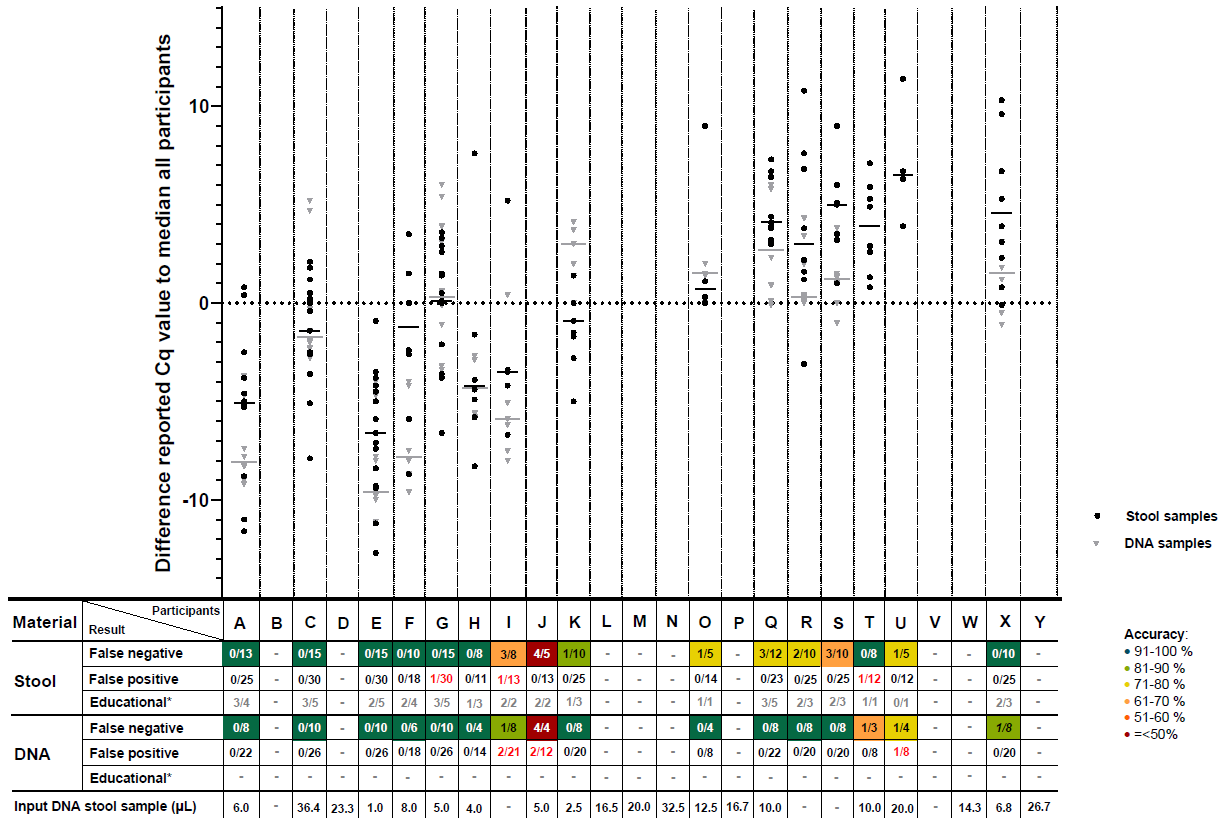
Figure 1a: *Schistosoma*



Accuracy:  
 • 91-100 %  
 • 81-90 %  
 • 71-80 %  
 • 61-70 %  
 • 51-60 %  
 • <=50%

# EQAS *Schistosoma* and soil-transmitted Helminths

Figure 1d: *Necator americanus*



Accuracy:  
 • 91-100 %  
 • 81-90 %  
 • 71-80 %  
 • 61-70 %  
 • 51-60 %  
 • <=50%



## EQAS *Acanthamoeba* (AEMQAS)

- AEMQAS sinds 2021
- *Acanthamoeba* veroorzaker van keratitis vooral bij lensdragers
- kan leiden tot blindheid
- Diagnostiek middels kweek is lastig
- PCR als alternatief in opkomst
- Voor 2021 geen EQAS beschikbaar



# EQAS *Acanthamoeba* (AEMQAS)

BASIC INVESTIGATION

---

OPEN

## An International External Quality Assessment Scheme to Assess the Diagnostic Performance of Polymerase Chain Reaction Detection of *Acanthamoeba* Keratitis

*Maarten J. Sarink, MD,\* Rob Koelewijn, BSc,\* Foekje Stelma, MD, PhD,† Titia Kortbeek, MD,‡  
Lisette van Lieshout, MD, PhD,§ Pieter W. Smit, PhD,¶ Aloysius G. M. Tielens, PhD,\* and  
Jaap J. van Hellemond, PhD\**

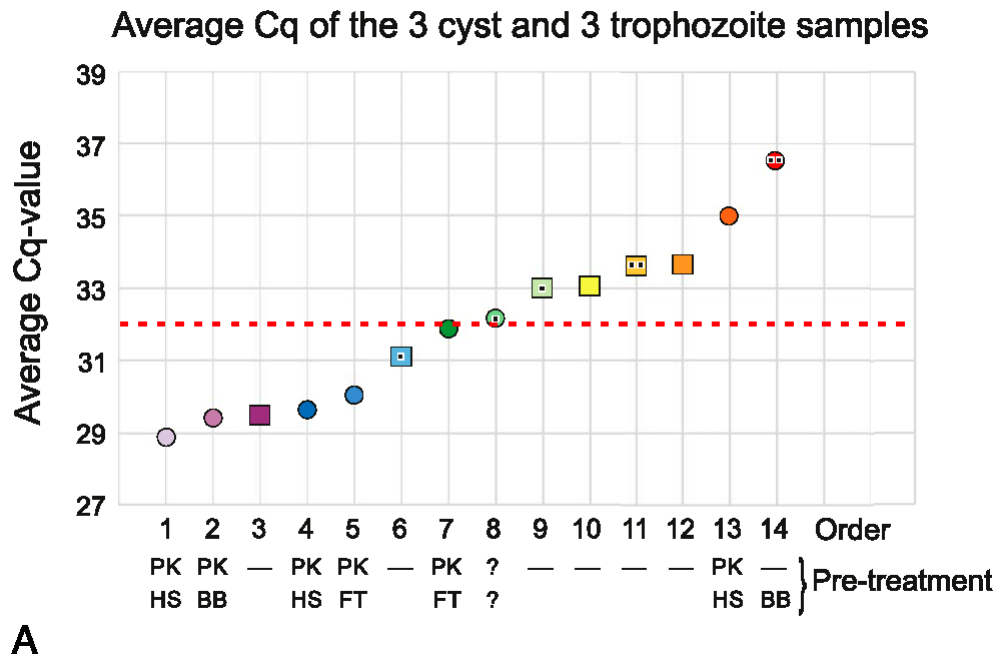
*Cornea* • Volume 42, Number 8, August 2023



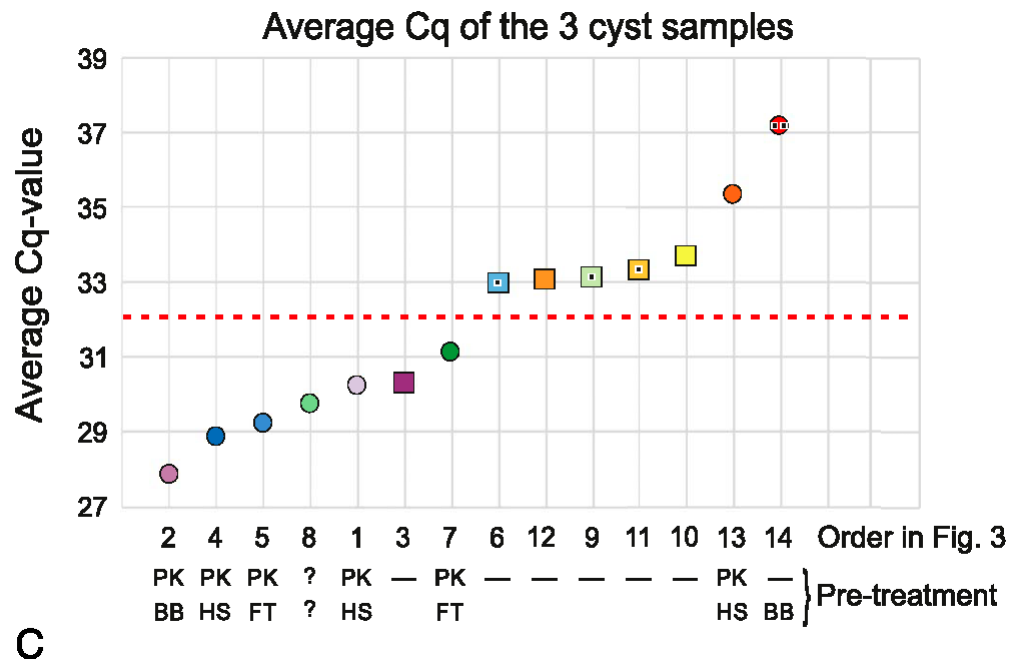
Stichting Kwaliteitsbewaking  
Medische Laboratoriumdiagnostiek

Sectie Parasitologie

# EQAS *Acanthamoeba* (AEMQAS)



# EQAS *Acanthamoeba* (AEMQAS)



## Samenvattend: EQAS SKML-parasitologie

Nadere analyse van parasieten EQAS voor moleculaire diagnostiek:

- Stelt deelnemers in staat methodes (veelal LDT's) en resultaten te vergelijken met die van de andere deelnemende klinische laboratoria
- Dit helpt gericht de kwaliteit van diagnostiek te verbeteren



Stichting Kwaliteitsbewaking  
Medische Laboratoriumdiagnostiek

Sectie Parasitologie