



Het doel van rondzendingen; de visie van vakgenoten

Caroline Swanink
14 juni 2011



Rijnstate



Rijnstate

Kwaliteitsrondzendingen SKML

- Het doel van de SKML is het bevorderen van de kwaliteit van medisch laboratoriumonderzoek in het kader van diagnostiek en behandeling en het op een zo hoog mogelijk peil brengen en houden van dat onderzoek.
- De kern van de werkzaamheden bestaat uit het verzorgen van rondzendingen.



Rondzendingen SKML-virologie

- Doel van de rondzendingen virologie is het verbeteren van de kwaliteit van virale diagnostiek, het gaat hierbij om detectie van het virus zelf.
- Is er plaats voor SKML rondzendingen virologie naast de bestaande UKNEQUAS en QCMD rondzendingen?
- Is er een verschil?
- Wat wordt er getoetst?



Rondzendingen QCMD



- QCMD = Quality Control for Molecular Diagnostics.
- Zend bekend pathogeen rond met verschillende concentratie virus (virale load).
- Bedoeld om analytische sensitiviteit te toetsen van gebruikte techniek in het eigen laboratorium (zowel home-made als commercieel verkrijgbare moleculaire testen).
- Vergelijking met diverse moleculaire platforms in verschillende laboratoria in diverse landen.
- Groot aantal deelnemende laboratoria (2000 deelnemers in >100 landen).
- Uitgebreid programma.



EQA Programme

Adenovirus

Coronavirus

Cytomegalovirus Dried Blood Spots

Enterovirus

Epstein-Barr virus

Herpes simplex virus 1 & 2

Human Immunodeficiency virus (DNA)

Human Cytomegalovirus

Human Herpes Virus 6

Human Metapneumovirus

Influenza A & B virus

Norovirus

Parainfluenza virus

Parechovirus

Respiratory Syncytial virus

Rhinovirus

Varicella-Zoster virus

Analysis Type

Qualitative / Quantitative

Qualitative / Quantitative

Qualitative / Quantitative

Qualitative / Quantitative

Qualitative / Quantitative

Qualitative / Quantitative

Qualitative / Quantitative

Qualitative / Quantitative

Qualitative / Quantitative

Qualitative / Quantitative

Qualitative / Quantitative

Qualitative / Quantitative

Qualitative / Quantitative

Qualitative / Quantitative

Qualitative / Quantitative

Qualitative / Quantitative

Qualitative / Quantitative

Shipping Conditions

Dry-ice

Dry-ice

Ambient

Ambient

Ambient

Ambient

Dry-ice

Ambient

Ambient

Dry-ice

Dry-ice

Dry-ice

Dry-ice

Ambient

Dry-ice

Dry-ice

Ambient



Rijnstate



SKML rondzending virologie



- Zend onbekend virus rond.
- Op basis van verstrekte klinische gegevens en materiaal moet keuze gemaakt worden voor een diagnostisch panel van testen.
- Toetst dus de klinische interpretatie van de verstrekte gegevens: welk virus kan dit omschreven klinisch beeld veroorzaken.
- Beperkt zich niet tot één bepaalde techniek, dus zowel kweek als antigeendetectie als moleculaire technieken kunnen gebruikt worden.
- Concentratie is vergelijkbaar met wat in klinisch monster verwacht wordt, toetst dus niet de analytische sensitiviteit.
- Rondgestuurde monsters kunnen meer dan 1 virus bevatten.



SKML rondzending virologie



- Deelname van uitsluitend Nederlandse laboratoria die virusdiagnostiek doen (n=25).
- Grote variatie in rondgezonden virussen per rondzending c.q. per materiaalsoort:
 - Virusdetectie in blaasjes/biopt/ooguitstrijk
 - Virusdetectie in faeces/urine
 - Virusdetectie in liquor
 - Virusdetectie in respiratoire materialen
 - Enterovirussurveilliance
- Biedt mogelijkheid om in te springen op actuele problemen, bijvoorbeeld bij recente uitbraak van bof onder studenten is bofvirus rondgestuurd.



Voorbeeld rondzending 2008-VIR-4



Monster : A
Materiaal : Nasopharynx wat
Gegevens : 1 maand oud jongetje opgenomen
vanwege luchtweginfectie.
Vraagstelling : Virusdetectie

Monster : B
Materiaal : BAL
Gegevens : 60 jarige vrouw bekend met rheuma en
vasculitis waarvoor prednison en immuran.
Opgenomen op IC vanwege respiratoire
insufficiëntie.
Vraagstelling : Virusdetectie



Uitslag



Monster	Uitslag	conform opzet
A	Influenzavirus A	20/23 (87%)
	Parainfluenzavirus 3	18/23 (78%)
B	Respiratoir syncytiaal virus	21/23 (91%)
	Adenovirus	16/23 (70%)



Evaluatie

- **Monster A.**
Op het grootste deel van de laboratoria werden beide virussen gedetecteerd in dit monster zowel met de celkweek als met PCR-technieken. Het typeren van parainfluenzavirus levert problemen op.
- **Monster B.**
Ook hier wordt in het merendeel van de gevallen de dubbelinfectie opgemerkt.



Gebruikte technieken



techniek

n labs

kweek

14

kweek + PCR

11

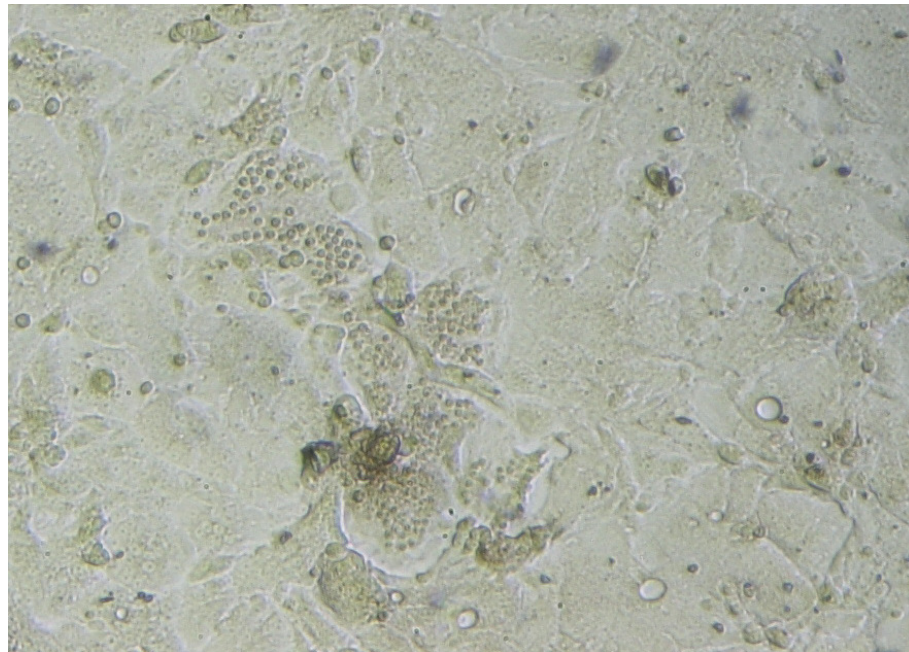
PCR geen kweek

8



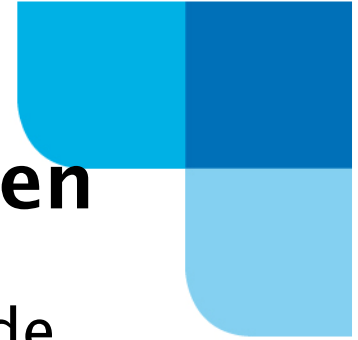
Weinig voorkomende virussen

- Tevens mogelijk om virussen rond te sturen die we niet wekelijks zien, maar wel moeten herkennen waaronder:
 - Poliovirus (polio-eradicatie programma)
 - Mazelenvirus
 - Bofvirus



(Re)evaluatie van gebruikte technieken

- Voorbeeld: In 2009 werd in ons laboratorium de Respifinder (MLPA) ingevoerd ter vervanging van virale kweek op respiratoire virussen.
- Reden:
 - Met kweek te veel dubbelinfecties gemist.
 - Sensitiviteit van moleculaire techniek hoger dan kweek.
 - Snelle detectie van humaan metapneumovirus, rhinovirus en coronavirus.
 - Ingevoerd na zorgvuldige evaluatie en validatie.





Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Virological Methods

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jviomet



Comparison of two commercial molecular assays for simultaneous detection of respiratory viruses in clinical samples using two automatic electrophoresis detection systems

L.E.S. Bruijnesteijn van Coppenraet^{a,*}, C.M.A. Swanink^b, A.A. van Zwet^b, R.H.T. Nijhuis^b, J. Schirm^c, J.A. Wallinga^a, G.J.H.M. Ruijs^a

^a *Laboratory of Medical Microbiology and Infectious Diseases, Isala Clinics, Stalbadstraat 3, 8021 AB Zwolle, The Netherlands*

^b *Department of Medical Microbiology and Immunology, Alysis Zorggroep, President Kennedylaan 100, 6883 AZ Velp, The Netherlands*

^c *Laboratory for Infectious Diseases, Van Ketwich Verschuurlaan 92, 9721 SW Groningen, The Netherlands*

Two molecular assays were compared with real-time RT-PCR and viral culture for simultaneous detection of common viruses from respiratory samples: a multiplex ligation-dependant probe amplification (MLPA) and a dual priming oligonucleotide system (DPO). In addition, the positive detections of MLPA and DPO were identified using two different automatic electrophoresis systems. A panel of 168 culture-positive and negative samples was tested by the molecular assays for the presence of influenza A and B virus, respiratory syncytial virus, human metapneumovirus, rhinovirus, coronaviruses, parainfluenza viruses and adenovirus.

Resultaten vergelijking



Target virus	MLPA	DPO	RT-PCR	Viral culture	Detected as mixed
Influenza A virus	11	11 [+1]	11	11	1 (8,3%)
Influenza B virus	11	6	11	8 [+1]	3 (25%)
RSV A/B	19	15	19	12	11 (58%)
Adenovirus	15 [+3]	13	13	10	7 (39%)
Parainfluenza 1-4 virus	24 [+2]	22	23	22 [+1]	7 (26%)
Rhinovirus	36 [+6]	30 [+2]	37	6	21 (46%)
Coronavirus	10 [+2]	7	10	-	9 (75%)
hMPV	14	11	13	-	3 (21%)

- Niet alleen meer rhinovirus, HMPV en coronavirus, maar ook vaker influenza B, RSV, adenovirus en para-influenzavirus gedetecteerd dan met kweek



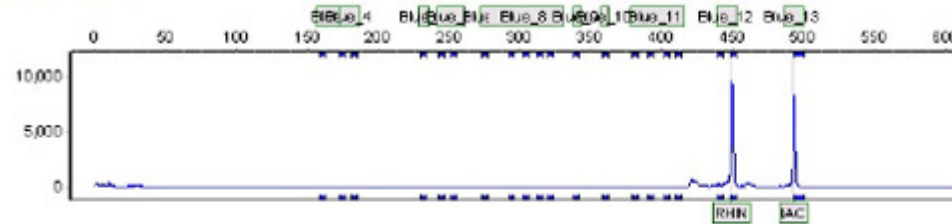
Respifinder

- Detecteert 14 virale pathogenen en 4 bacteriën:
 - Adenovirus
 - Coronavirus 229^E, NL63 en OC43
 - Human Metapneumovirus (hMPV)
 - Influenza A virus
 - Influenza B virus
 - Parainfluenzavirus type 1 t/m 4
 - Respiratory Syncytial Virus (RSVA + RSVB)
 - Rhinovirus
 - *Bordetella pertussis*
 - *Chlamydophila pneumoniae*
 - *Legionella pneumophila*
 - *Mycoplasma pneumoniae*



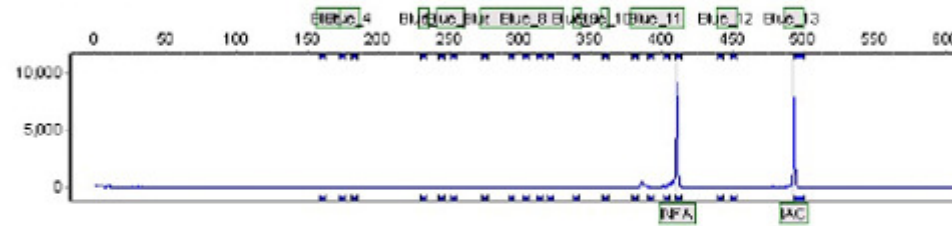
Sample 5:

Dye: Blue - 2 peaks - 1_VAF070239_F01_Respfinder-180806_11.fsa



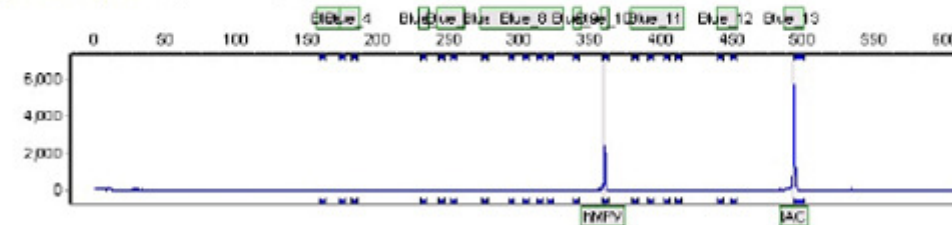
Sample 6:

Dye: Blue - 2 peaks - 1_VAF070301_G01_Respfinder-180808_13.fsa



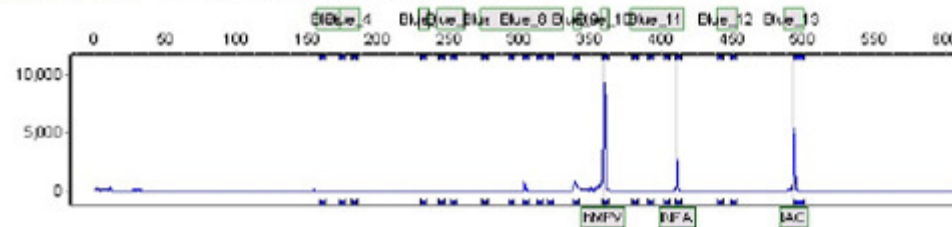
Sample 7:

Dye: Blue - 2 peaks - 1_VAF070357_I01_Respfinder-180809_15.fsa



Sample 8:

Dye: Blue - 3 peaks - 1_VAF070384_A02_Respfinder-180809_02.fsa



Detectie m.b.v. capillaire electroforese waarbij lengte PCR-fragmenten wordt gedetecteerd als “piekjes”.



Rondzending respiratoire virussen 2010

- Na invoering Respifinder: score 5/10.
- Wat is er aan de hand?
- 2 x influenza A virus gemist \Rightarrow beide keren als rhinovirus uitgeslagen
- rhinovirus gemist (dubbelinfectie met HMPV)
- HMPV wel gedetecteerd



Re-evaluatie Respifinder

- Bij revisie van SKML-resultaten blijkt dat piekjes foutief geïnterpreteerd zijn als rhinovirus, bij revisie beoordeeld als influenza A virus.
- Piekjes liggen soms erg dicht bij elkaar en onderscheid influenzavirus en rhinovirus is de praktijk lastig.
- Contaminatie gevoelige techniek
- Meerdere malen influenza B virus gedetecteerd buiten “griepseizoen” die bij hertesten niet werd aangetroffen.
- Conclusie: te veel problemen met Respifinder ⇒ over op real-time PCR.



Conclusie

- Rondzending SKML draagt bij aan verbetering van kwaliteit.
- Maakt gebruik van op klinische monsters gelijkende monsters.
- Toetst niet alleen interpretatie van de klinische gegevens (wordt naar de juiste virussen gezocht), maar geeft ook informatie over sensitiviteit van gebruikte techniek.
- Heeft meerwaarde ten opzichte van QCMD en UKNEQUAS omdat de SKML-rondzendingen ook de kennis van de klinische beelden toetst.

