

En wat hebben we vandaag geleerd?

Reinoud Cartuyvels



Johan Frans: Diagnostisch scenario.

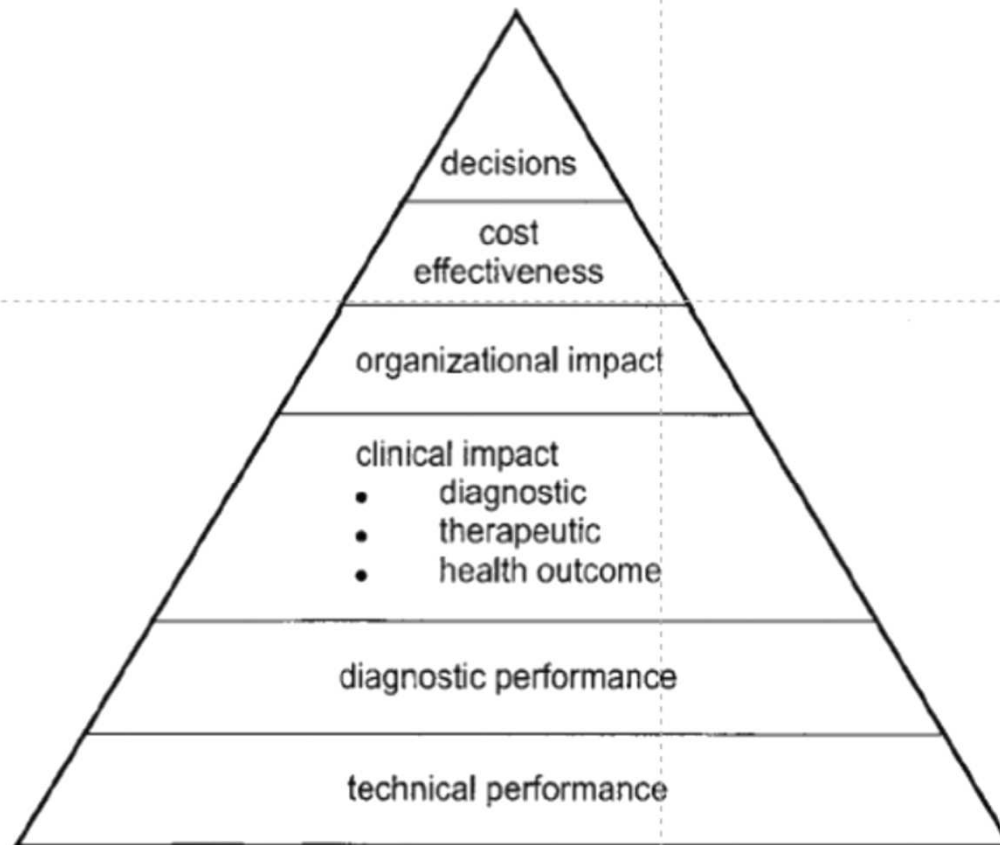
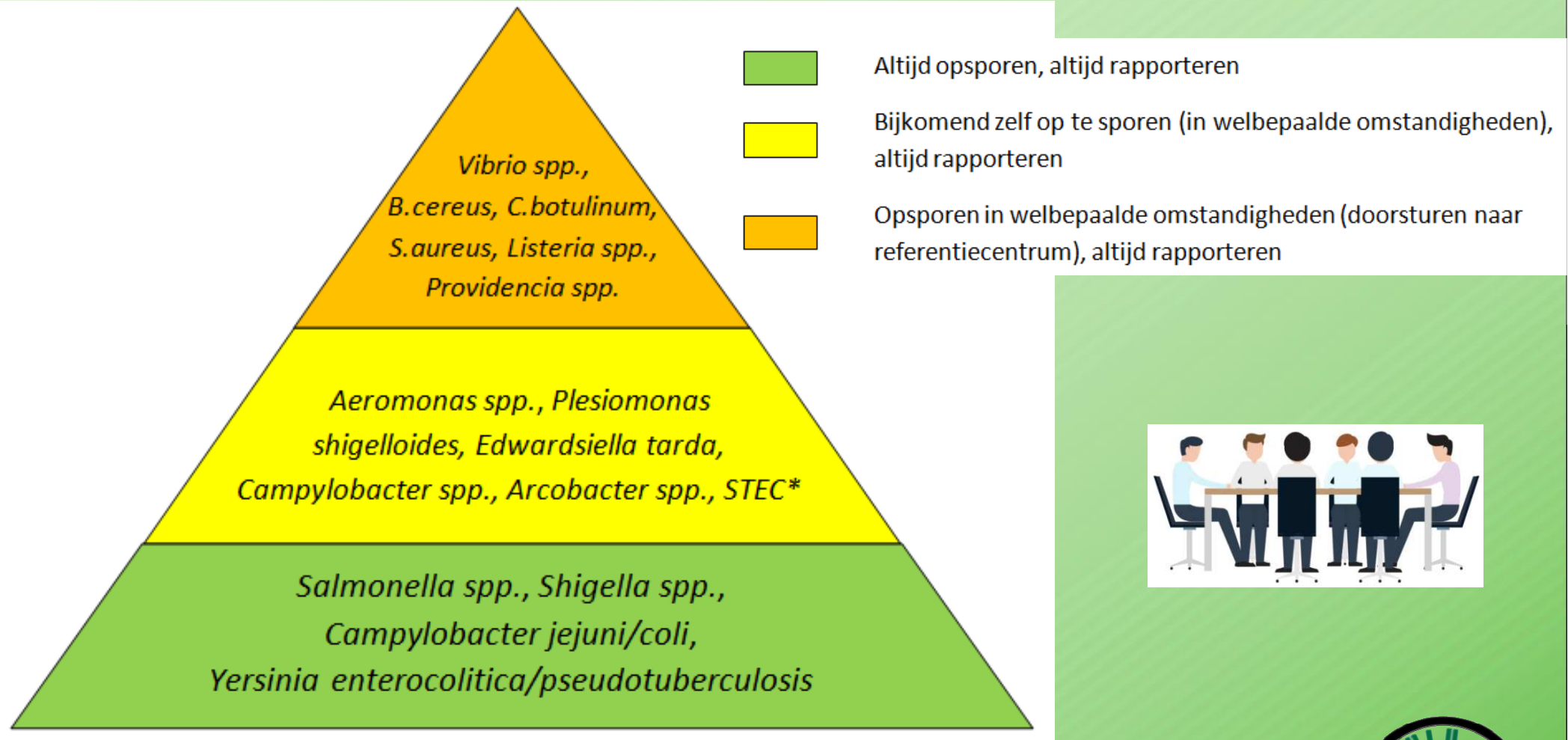


Fig. 2. Evidence of performance designed to facilitate decision-making.



Lien Cattoir: BILULU consensus – The making of ...



*Op te sporen bij (anamnese van) bloederige stoelgang of HUS.
In geval van sterk klinisch vermoeden bijkomend doorsturen naar het referentielaboratorium



Lien Cattoir: BILULU consensus – The making of ...

- Beperkte evidentie voor gebruik transportmedia
- Let op met rejectie van stalen op basis van consistentie en hospitalisatieduur
- Meeropbrengst MacConkey zeer beperkt
- Incubatieduur Campylobacterplaat 48u voldoende (?)
- Aandacht voor correcte identificatie van *Shigella spp.*
(DD *Plesiomonas shigelloides*)



Prof. Jean Plum: Microbioom analyse van de darmflora

- Twee methoden: 16S-rRNA gene of Shotgun
- Lijst OTU en Taxa met 16S-rRNA gene
- Diepte afhankelijk van aantal OTU en taxonomie van kingdom tot species, meestal phylum
- Complexe datastructuur, veel data, ongelijk verdeeld



Prof. Jean Plum: Microbioom analyse van de darmflora

- Microbiële data zijn kwalitatief niet kwantitatief
- Uitkomst verwerking data afhankelijk van gekozen software
- Bio-informatica α en β analyse
- Associatie is geen causaliteit
- Toekomst: Betere sequentie bepaling, betere software, betere databases, meer info tegen lagere kostprijs
- “Shit happens to become of interest”



Dr. Peter Bossuyt: Wat wil de gastro-enteroloog nu echt weten over uw stoelgang?

- Anamnese en kliniek
- Selectief stoelgangsstaal
- Restrictief in AB therapie
- Timing resultaten



Annemie Van den Abeele: Wat brengt de toekomst?

- **Pre-analytisch**

Syndroom gebaseerd

Patiëntengroepen - geïndividualiseerde aanpak

- **Analytisch**

Proteomics en (meta)genomics

Culturomics ondersteunt

- **Post-analytisch**

Aangepaste communicatie



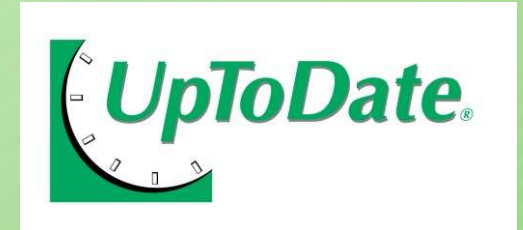
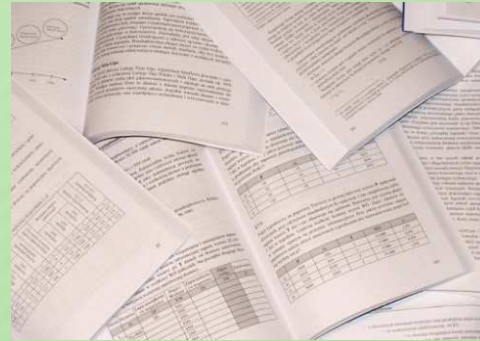
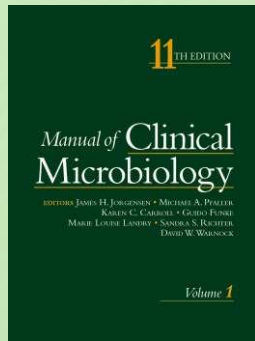
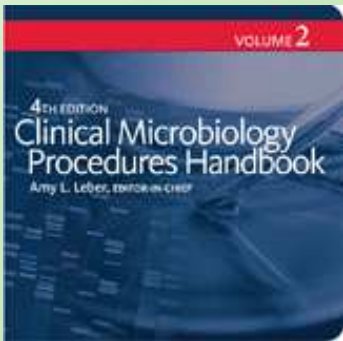
Consensusdocument: Laboratoriumdiagnostiek bij gastro-enteritis

**Deel 1: Opsporen van bacteriële verwekkers van
gastro-enteritis**

Versie 1



De bronnen ...



De bronnen ...



Pre-analytische fase

- **Transport- en bewaartijd:** zo kort mogelijk, zeker <24 uur (geen evidentie, expert opinie)
- **Replica-limiet:** 1 staal / 24 uur (Leber)
- **Staalvolume:** minimaal 5 mL of 0.5 g (Leber, Humphries)



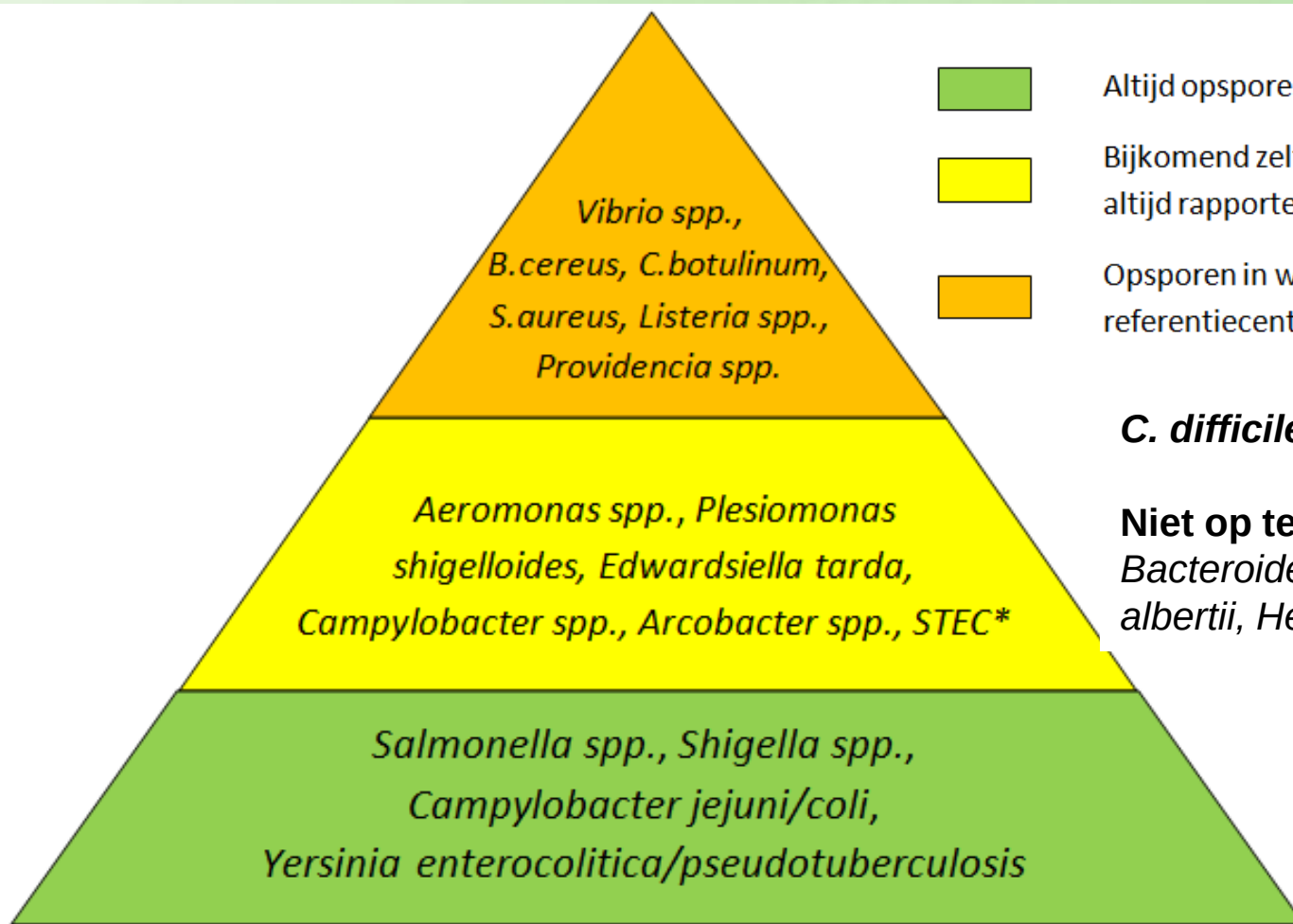
Pre-analytische fase

Staaltypes voor faecescultuur (Leber, Humphries, expert opinie)

- **Aanvaardbaar:** Gewoon stoelgangstaal in droog, steriel recipiënt, ongeacht consistentie of hospitalisatieduur
- **Onaanvaardbaar:**
 - ✓ Luiers
 - ✓ WC-papier met stoelgang
 - ✓ Foutief afnamerecipiënt
(vb. container voor OZ parasieten, gefixeerde stalen)
 - ✓ Staalontvangst na > 24 uur
 - ✓ >1 staal per 24 uur
 - ✓ Rectale wisser



Analytische fase: driehoek van Cattoir



Altijd opsporen, altijd rapporteren



Bijkomend zelf op te sporen (in welbepaalde omstandigheden), altijd rapporteren



Opsporen in welbepaalde omstandigheden (doorsturen naar referentiecentrum), altijd rapporteren

C. difficile valt buiten scope van dit document.

Niet op te sporen micro-organismen:

Bacteroides spp, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia albertii*, *Helicobacter pullorum*.

**STEC*: Op te sporen bij (anamnese van) bloederige stoelgang of HUS. In geval van sterk klinisch vermoeden steeds bijkomend doorsturen naar het



Analytische fase

- **Staalvoorbereiding:**
 - ✓ vloeibare stalen: geen (expert opinie)
 - ✓ overige stalen: suspensie maken in fysiologisch H₂O
CAVE! niet te veel verdunnen (expert opinie)
- **Volume enting:**
 - ✓ Platen: 1-3 druppels (Leber, expert opinie)
 - ✓ Aanrijkingsmilieu: onduidelijk (1-2 g faeces volgens de bijsluiter, echter geen evidentie teruggevonden, moeilijk haalbaar in de praktijk en in strijd met aanbevolen minimale staalvolume)



Analytische fase: Te enten voedingsbodems 1



- **Rechtstreeks te enten:**

- ✓ (MacConkey)
- ✓ Keuze uit: XLD, Hektoen, Chromagar Salmonella, Brilliance green, Bismuth sulfiet (Leber, Humphries)
- ✓ Aeromonas Yersinia agar (CIN, AY, CAY) (expert opinie)
- ✓ Selectieve plaat voor *Campylobacter jejuni/coli* (vb. blood-free charcoal, blood-free CCDA, blood-based Campy-VCA, Butzler, Campylosel, Skirrow, CASA , ...) (Leber, Humphries)
- ✓ Een aanrijksmilieu: Seleniet (Leber, expert opinie)



Analytische fase: Te enten voedingsbodems 2

- **Enten vanuit seleniet na 18-24 uur incubatie:**
 - ✓ Keuze uit XLD, SS, Hektoen, Chromagar Salmonella, Brilliance green, Bismuth sufiet
 - ✓ Bij voorkeur andere plaat dan bij rechtstreekse enting
 - ✓ (Leber, Humphries)
- **Bij (anamnese van) bloederige stoelgang of HUS:**
 - ✓ NSF-O157 VTEC: CT-SMAC of CHROMagar O157 (Leber, Humphries)
 - ✓ Andere VTEC: MAC broth (Leber, Humphries)
 - ✓ Staal sturen naar referentielaboratorium (AZ VUB)



Analytische fase: Te enten voedingsbodems 3

“Bilulu’s choice”

(obv literatuur en eigen experimenten):

- ALTIJD

Rechtstreeks te enten:

- XLD
- AY
- selectieve plaat voor *Campylobacter jejuni/coli*
- seleniet

Te enten vanuit seleniet na 18-24 uur incubatie: SS

- Bij (anamnese van) bloederige stoelgang of HUS:
 - NSF-O157 VTEC: CT-SMAC of CHROMagar O157
 - Andere VTEC: MAC broth



Analytische fase: incubatie 1

Bodem	atmosfeer	temperatuur	duur
XLD, SS, Hektoen, ...	aëroob	35-37°C	24 u
CIN	aëroob	25°C	48 u
Campylobacter	micro-aërofiel	35-37°C of 42°C	48-72 u
Seleniet	aëroob	35-37°C	18-24 u
CT-SMAC, ...	aëroob	35-37°C	24 u
MAC broth	aëroob	35-37°C	24 u

Referenties: Leber, Humphries



Analytische fase: Incubatie 2

"Bilulu's choice"

(obv literatuur en eigen experimenten):



XLD, SS, Hektoen, ...	aëroob	35-37°C	18-24 u
AY	aëroob	35°C	42-48 u
Campylobacter	micro-aërofiel	42°C	42-48 u
Seleniet	aëroob	35-37°C	18-24 u
CT-SMAC, ...	aëroob	35-37°C	24 u
MAC broth	aëroob	35-37°C	24 u



Analytische fase: Aflezen en uitwerken

- **Aflezen**

- ✓ Dagelijks

- **Uitwerking**

- ✓ Algemene regel: **alle verdachte kolonietypes** dienen geïdentificeerd en zo nodig verder uitgewerkt te worden
- ✓ Specifiek voor AY agar en Campylobacter plaat: identificatie van **andere morfotypes** kan nuttig zijn voor detectie van bijkomende pathogenen (*Aeromonas spp.*, *Plesiomonas shigelloides*, *Edwardsiella tarda*, *Campylobacter spp.*, *Arcobacter spp.*)
- ✓ MAC broth → immunoassay



Analytische fase: Antibioogram 1

- Voer steeds een gevoeligheidsbepaling uit bij identificatie van een enteropathogeen (uitgezonderd STEC) (Leber)
- En hoe rapporteren?



Analytische fase: Antibioqram 2

- *Salmonella spp.*
- *Shigella spp.*
- *Yersinia enterocolitica & pseudotuberculosis*
- *Aeromonas spp.*
- *Plesiomonas shigelloides*
- *Edwardsiella tarda*

⇒ Rapporteer AMPI/AMOX, SXT en FQ

- ✓ Op expliciete vraag van de clinicus
- ✓ Indien enteropathogeen ook uit HK, urine of ander steriel lichaamsvocht (rapporteer bijkomend CF3)
- ✓ *Shigella spp.*, *Salmonella serovar Typhi*, *Salmonella serovar Paratyphi A*
- ✓ Kinderen <1 jaar, volwassenen >65 jaar
- ✓ Immuungecompromitteerde patiënten



Analytische fase: Antibioqram 3

- *Campylobacter coli* & *jejuni* ⇒ Rapporteer fluoroquinolone en erythromycine
- *Arcobacter spp.* ⇒ Rapporteer een macrolide, een fluoroquinolone en tetracycline



Referenties: Leber

Post-analytische fase: Rapportering 1



- **Stalen met uitsluitend darmflora**

“Geen *Salmonella species*, *Shigella species*, *Campylobacter jejuni/coli*, *Yersinia enterocolitica/pseudotuberculosis*, *Aeromonas caviae/veronii* terug gevonden.” (Leber, Humphries)

- **Stalen met pathogeen**

Pathogenen rapporteren met identificatie, (semi-)kwantificatie, antibiogram (cfr. Supra)



Post-analytische fase: Rapportering 2

- **Bijkomende commentaren per kiem mbt. klinische betekenis en medisch beleid. Enkele voorbeelden:**
 - ✓ Niet-typhoidale *Salmonella* infecties zijn meestal zelflimiterend en symptomatische behandeling met toediening van vocht en elektrolyten vormt de hoeksteen van de behandeling. Antibioticatherapie (fluoroquinolone of azithromycine) is enkel zinvol bij patiënten met (risico voor) invasieve infecties en verhoogt het risico op langdurige excretie.
 - ✓ Sommige *Aeromonas species* zijn verwekkers van gastro-enteritis. Meestal gaat het om een milde, zelflimiterende, waterige diarree, vaak gepaard met buikpijn, koorts en braken. Een antibioticumbehandeling is in deze gevallen meestal niet nodig. Zelden ontstaat er dysenterie-achtig beeld met bloederige stoelgang of een cholera-achtig syndroom. Bij een ernstig verloop kan therapie met azithromycine of een fluoroquinolone geïndiceerd zijn.



Post-analytische fase: Rapportering 3

- **Bijkomende commentaren per kiem mbt. klinische betekenis en medisch beleid**
- ✓ *Edwardsiella tarda* behoort tot de normale darmflora. Deze bacterie kan – voornamelijk na blootstelling aquarium water en/of waterschildpadden – verwekker zijn van (opportunistische) gastro-enteritis. Over het nut van behandeling bestaat geen consensus.
- ✓ *Arcobacter butzleri* en *Arcobacter cryaerophilus* kunnen een acute gastro-enteritis veroorzaken. Zoals voor *Campylobacter* is een behandeling met antibiotica niet standaard aanbevolen. Een gevoeligheidsbepaling voor de individuele (immuungecompromitteerde) patiënt kan uitgevoerd worden na overleg met de microbioloog.



Vragen en discussie

