

Moleculaire diagnostiek darmparasieten -overzicht 2015-

Theo Schuurs, moleculair bioloog

Lid namens WMDI / NVMM

Rob Koelewijn

Jaap van Hellemond

2013: Introductie fecespanel geschikt voor Mdx

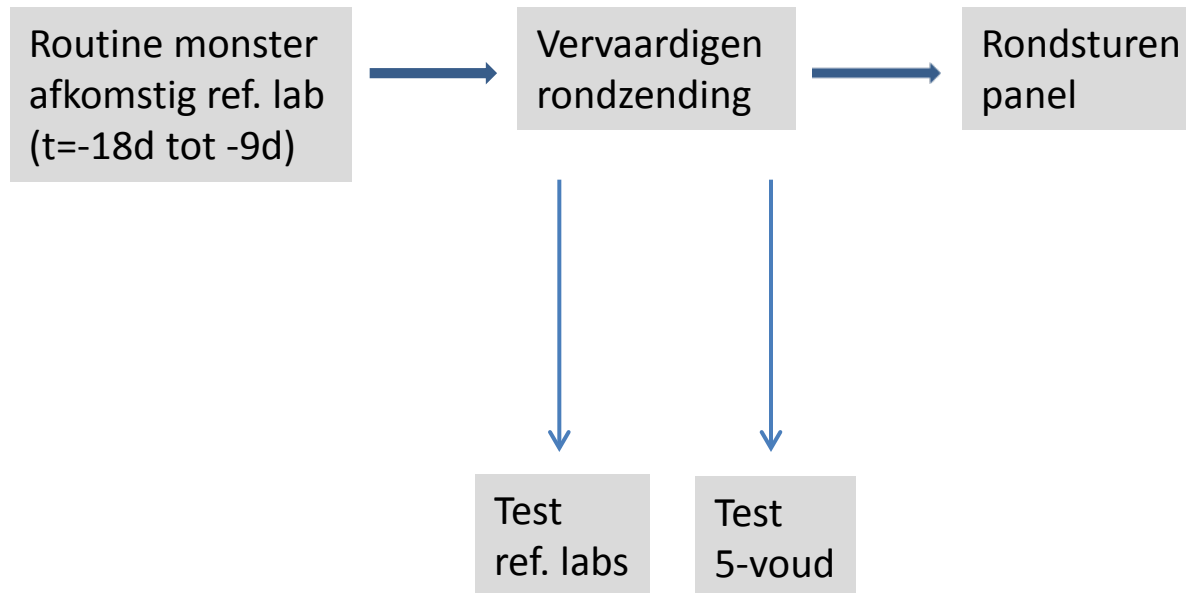
SKML-parasitologie

Voorwaarden rondzending:

- pathogeen in feces
 - > geen gevriesdroogd materiaal
 - > geen DNA
 - > niet gefixeerd
- hoge kwaliteit: reproduceerbare en stabiele feces-monsters
- uitdagende loads geschikt voor moleculaire diagnostiek



Workflow monsters moleculair panel (SKML-parasitologie)

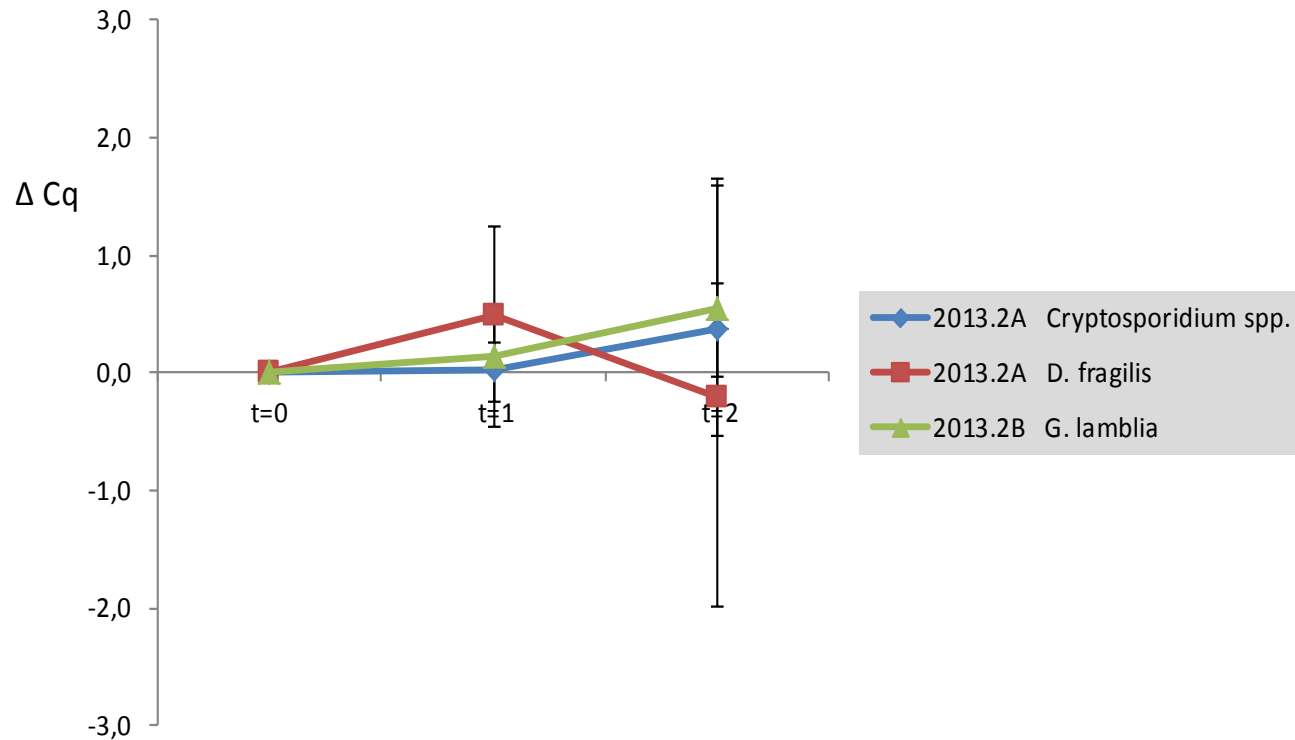


Kwaliteitscontrole: Documentatie

	Rondzending feces PCR SKML 3e en 4e rondzending 2012																			
Nummer	FMB-17				FMB-20				FMB-23				FMB-24							
Materiaal	feces				feces				feces				feces							
Hoeveelheid																				
Aangeleverd door	Izore				Izore				HZH/Erasmus				Haarlem							
Klinische gegevens																				
Datum bereiding	16-7-2012				26-7-2012				24-10-2012				24-10-2012							
Vries dooi cyclus	Nee				Nee															
Verzonden naar ref. lab	17-7-2012				31-7-2012				24-10-2012				24-10-2012							
PIN																				
Datum 1e bevinding	10-7-2012																			
Uitslag Microscopie									CR								EH			
Uitslag PCR	GL				CR				CR								EH			
CT-waarde	19,1				31,7				onb								onb			
Uitgevoerd door:	HZH/EMC				HZH/EMC				HZH/EMC				HZH/EMC							
Datum 5-plo	25-jul																			
Uitslag 5-plo	27,6				33,6				34,6								36,7			
	27,7				34,0				34,0								37,3			
	27,9				34,5				35,6								37,3			
	27,4				34,1				34,4								36,9			
	28,2				34,6				34,1								36,4			
Gem.	27,8				34,2				34,5								36,9			
SD.	0,30				0,40				0,64								0,39			
Uitslag PCR	GL																			
Uitslag ref. lab	GL				CR				CR								EH			
Gem.	24,9				31,8				28,6								33,2			
SD.	2,48				2,4				5,01								3,07			
CT-waarde max.	27,8				34,2				34,5								37,0			
CT-waarde min.	21,1				28,5				20,2								28,4			
Geschikt voor rondzending	ja				ja				ja				ja							
Opmerking																				
Nummer rondzending	2012-3E				2012-3E				2012.4.E				2012.4.E							



Stabiliteit monsters (na 14 dagen kamertemp.)



Overzicht 2015

	parasiet	n (correct)	n (totaal)	Cq	opmerkingen
2015.1A	<i>D. fragilis</i>	28	28	31	
2015.1B	<i>G. lamblia</i>	31	32	29	(1x FN)
2015.1C	<i>Crypto spp.</i>	31	32	31	(1x verwisseling)
2015.2A	<i>D. fragilis</i>	24	26	34	(2x FN)
	<i>E. dispar</i>	5	6	32	(1x FN)
2015.2B	<i>E. histolytica</i>	30	31	32	(1x FN)
	<i>E. dispar</i>	5	6	32	(1x FN)
2015.2C	<i>G. lamblia</i>	31	31	28	
2015.2D	<i>G. lamblia</i> (DNA!)	30	31	26	(1x FN)
2015.3A	<i>D. fragilis</i>	27	27	30	(1x FP: <i>G.lamblia</i>)
2013.3B	<i>Crypto spp.</i>	30	31	30	(1x FN)
2013.3C	<i>G. lamblia</i>	30	31	28	(1x FN)

Rondzendingen 2013-2015

2013 8 samples	(4 rounds, 2 samples each)
2014 8 samples	(4 rounds, 2 samples each)
2015 9 samples	(3 rounds, 3 samples each)

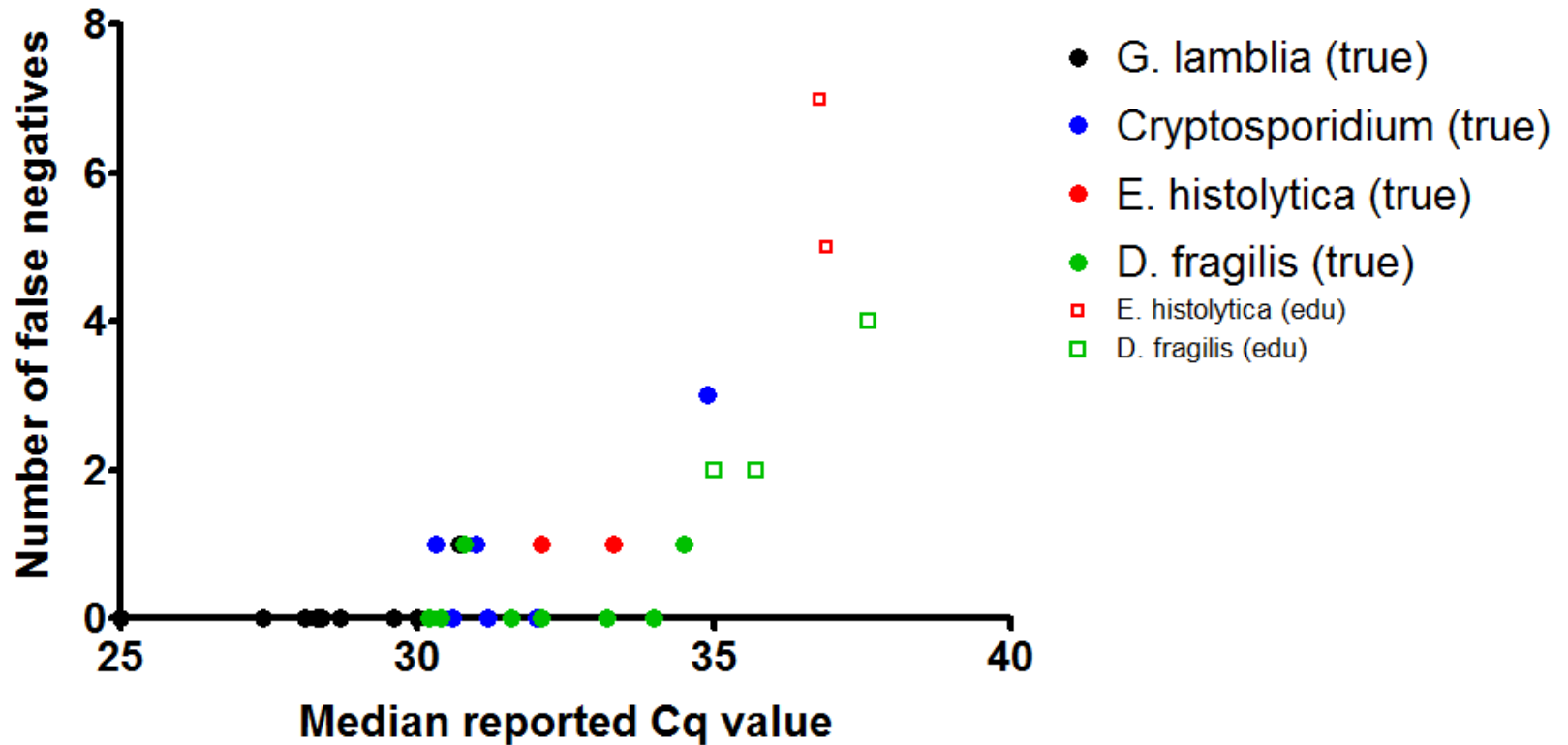
<i>Giardia lamblia</i>	10x
<i>Entamoeba histolytica</i>	4x
<i>Cryptosporidium</i> spp.	6x
<i>Dientamoeba fragilis</i>	11x
<i>Entamoeba dispar</i>	3x

Sensitiviteit 2013-2015

	<i>G.lamblia</i>	N	<i>Crypto spp.</i>	N	<i>E.histolytica</i>	N	<i>D.fragilis</i>	N
2013	99	85	92	38	77	26	nd	-
2014	96	84	100	54	83	52	98	48
2015	98	85	96	57	97	29	100	73

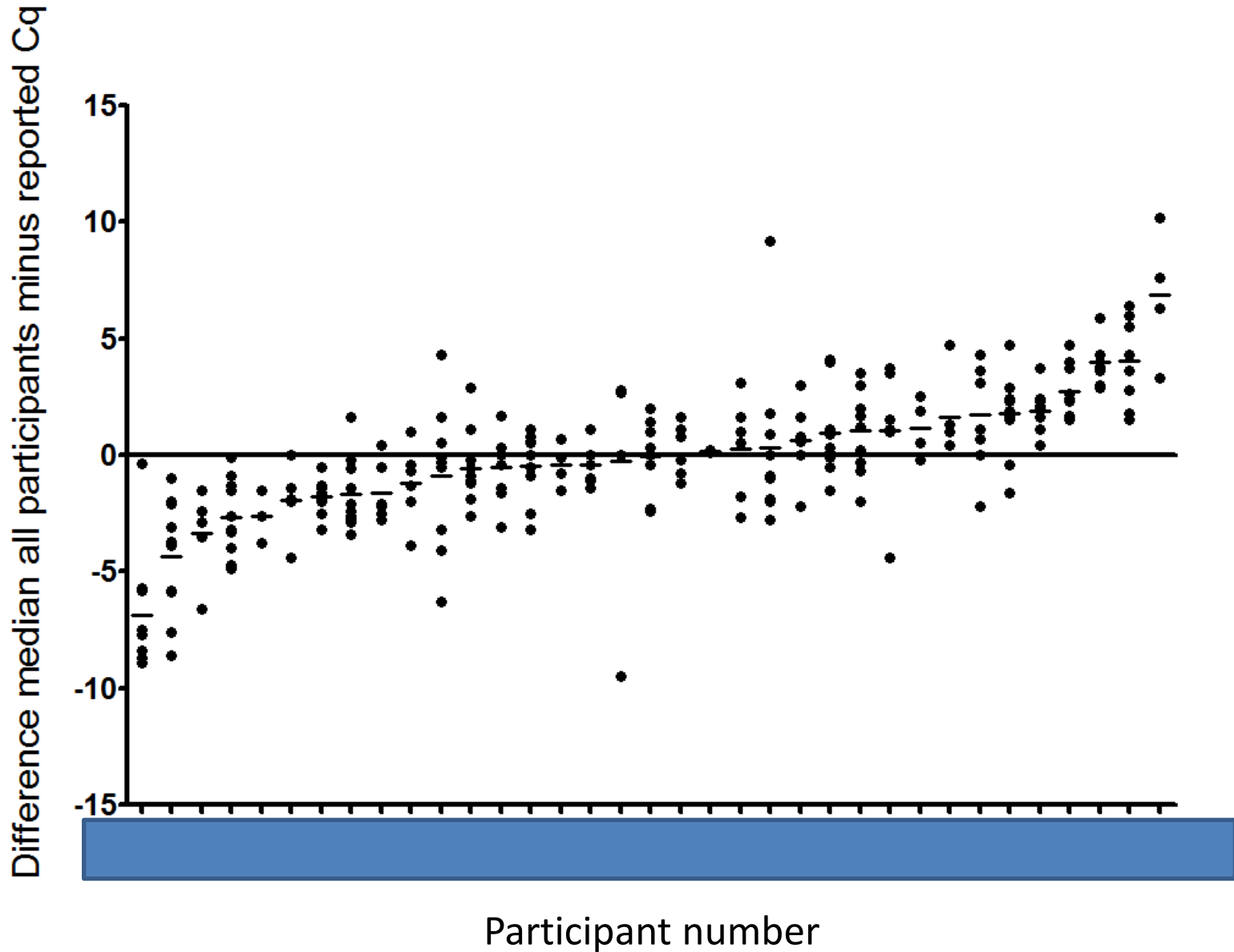
N = number of reported results (participants * samples)

Fout-negatieven 2013-2015

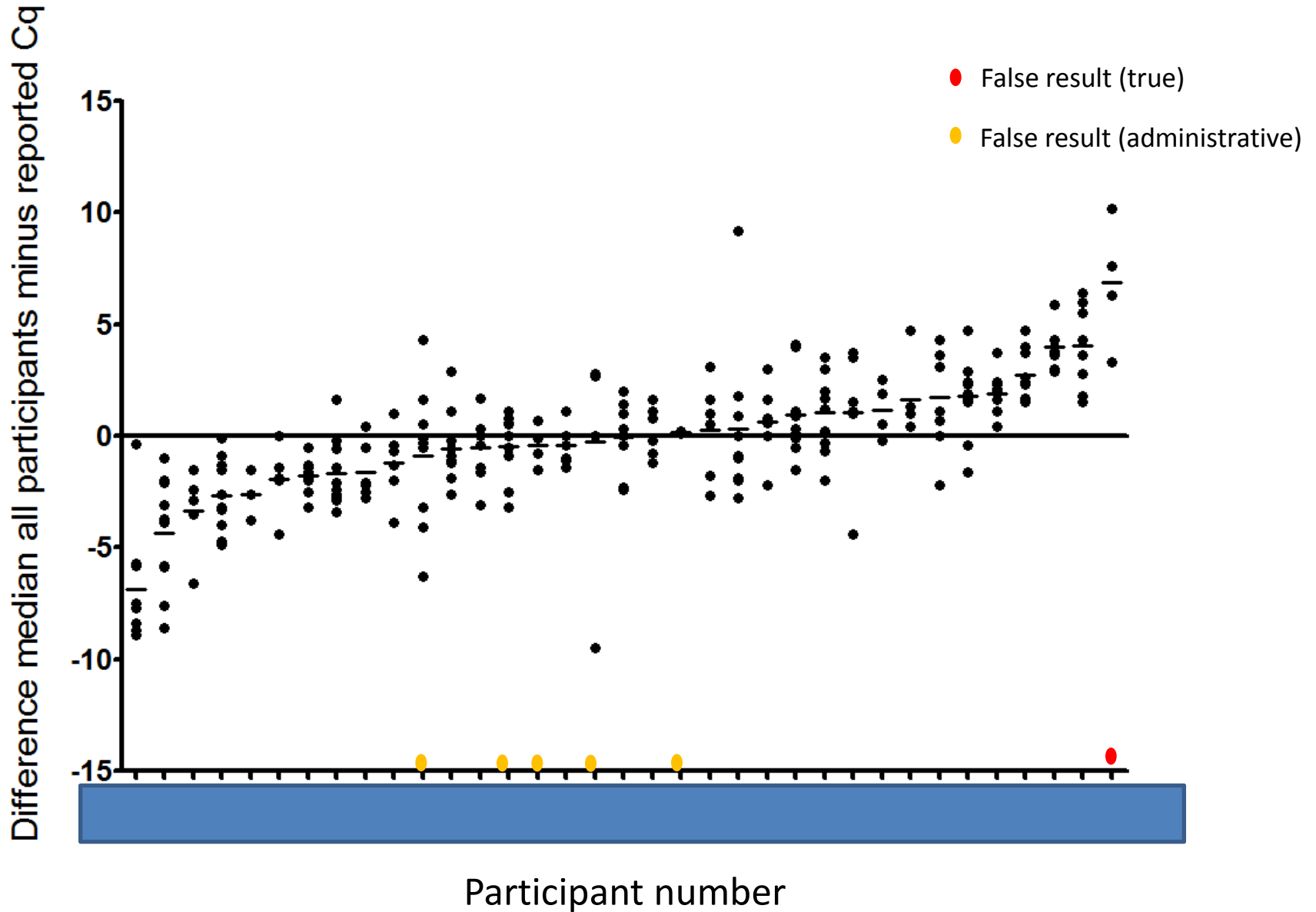


relative load

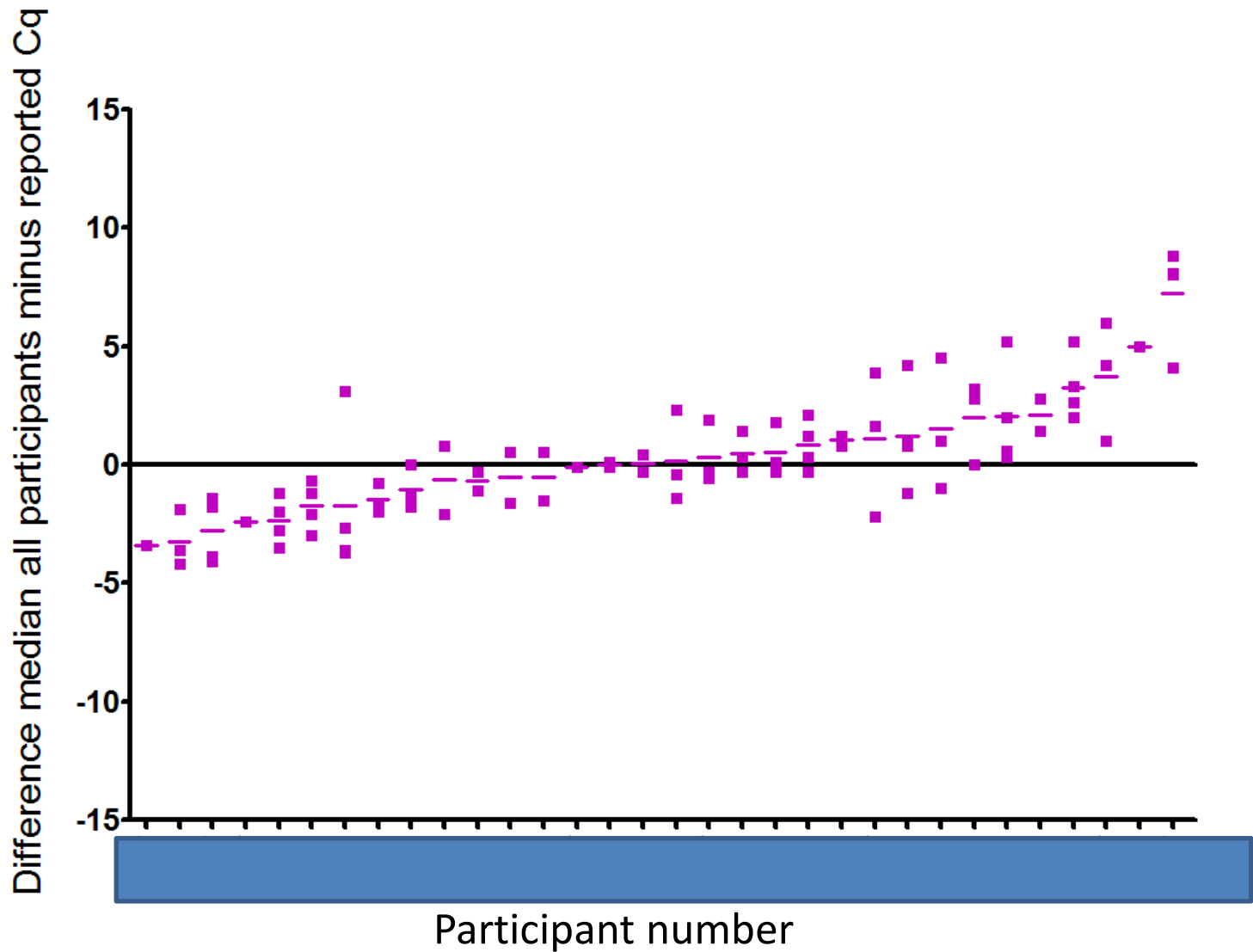
Cq waarden *G.lamblia* per laboratorium, 2013-2015



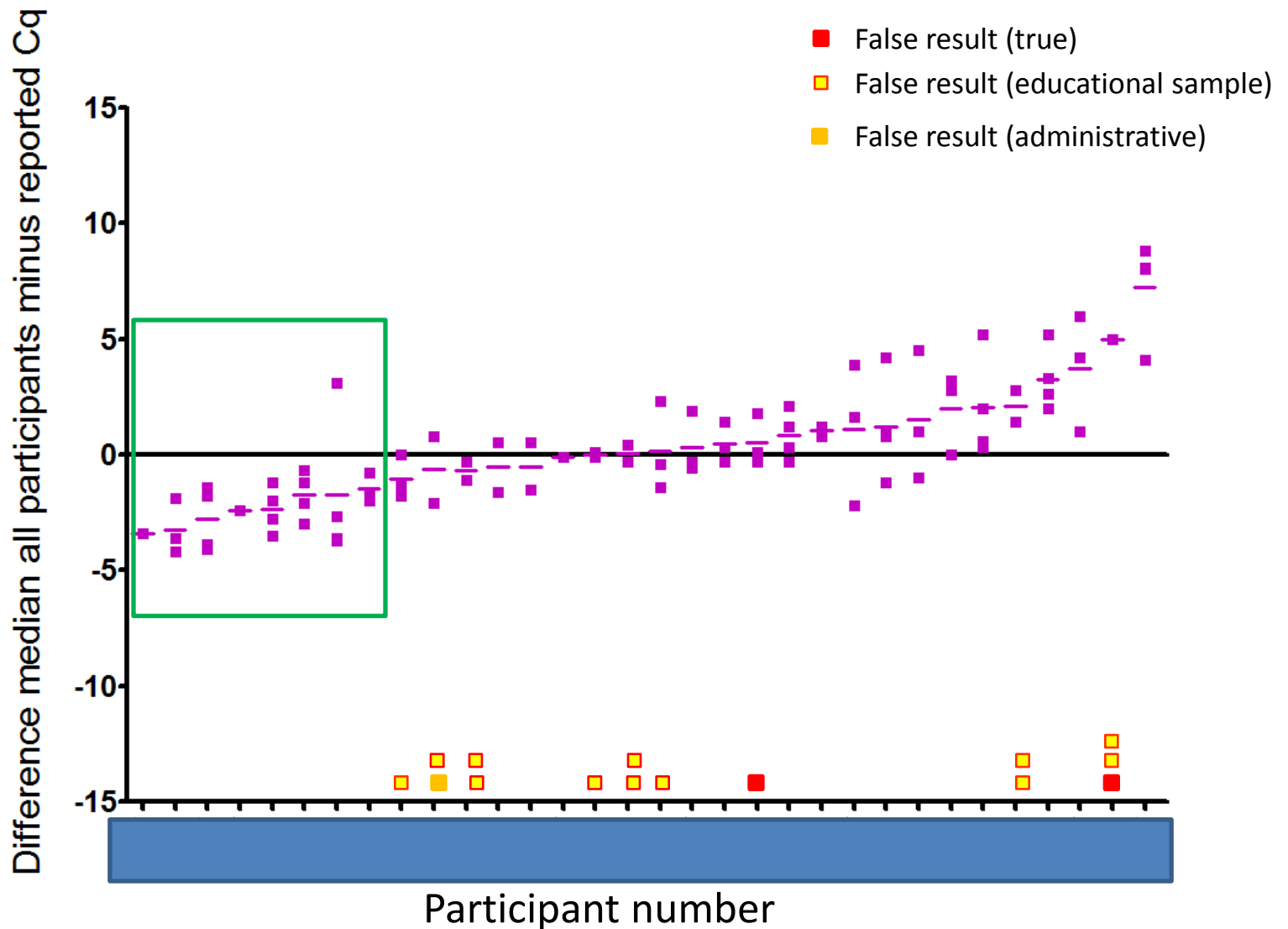
Cq waarden *G.lamblia* per laboratorium, 2013-2015



Cq waarden *E.histolytica* per laboratorium, 2013-2015



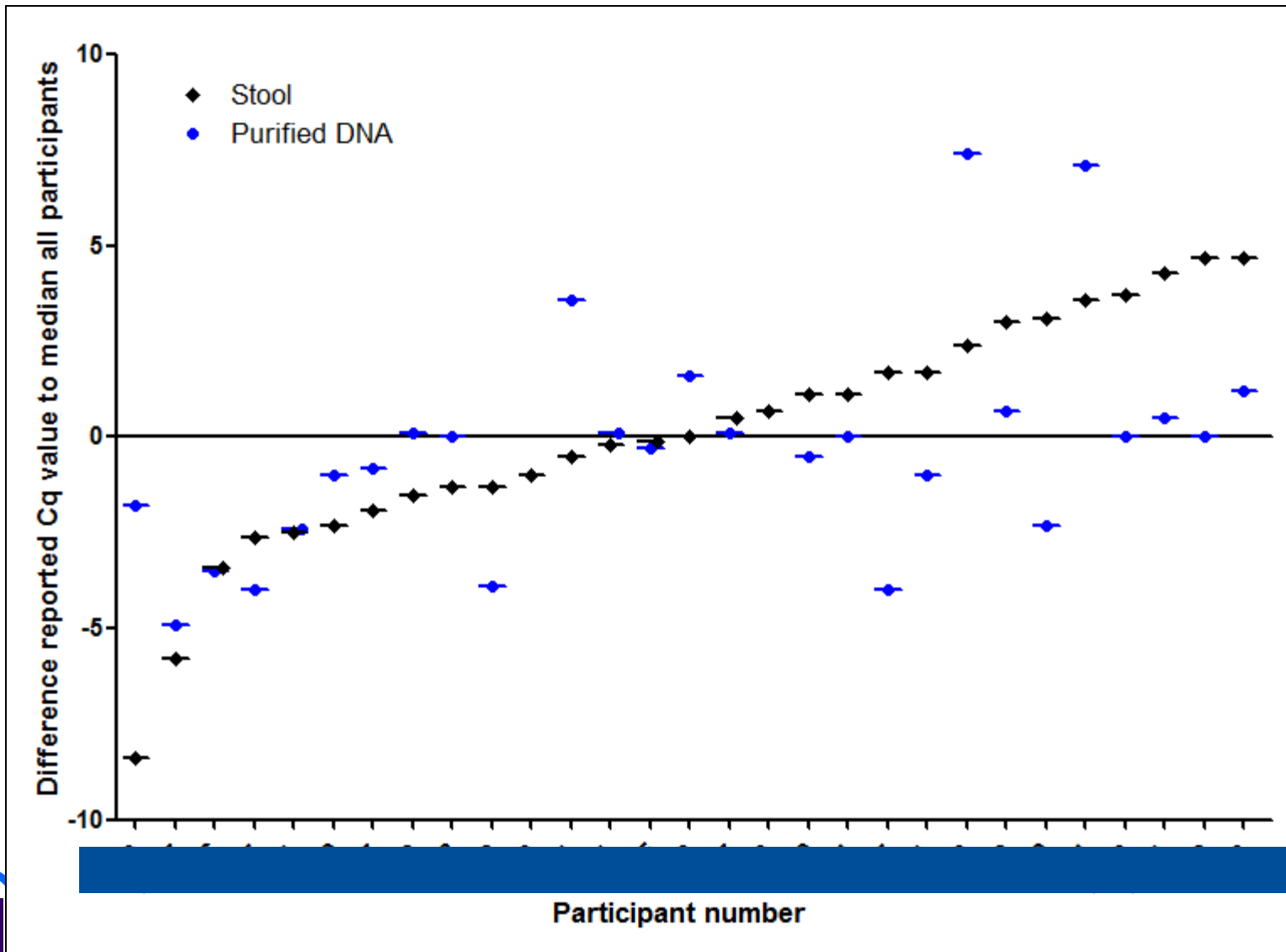
Cq waarden *E.histolytica* per laboratorium, 2013-2015



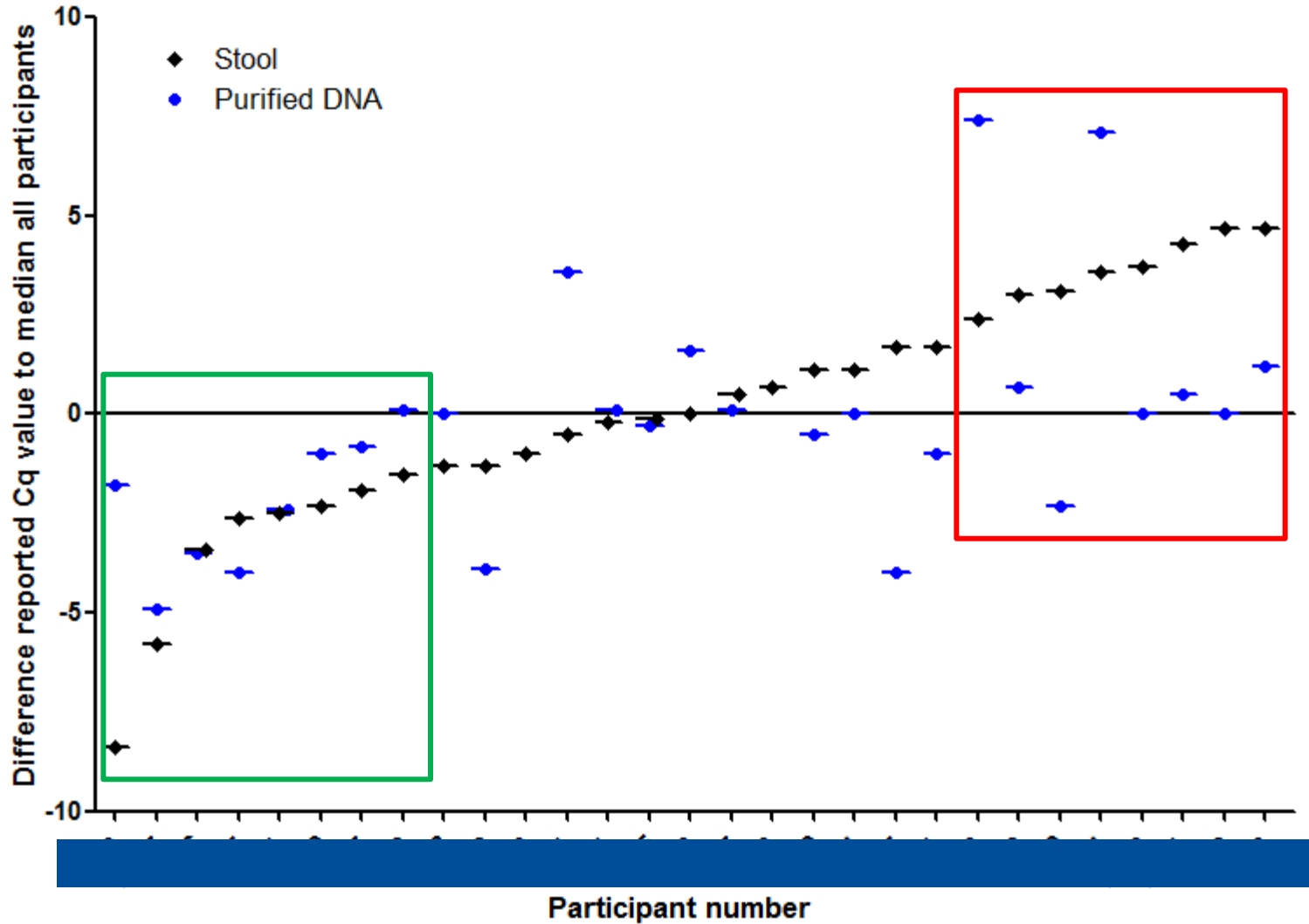
Werkwijze moleculaire diagnostiek intestinale parasieten



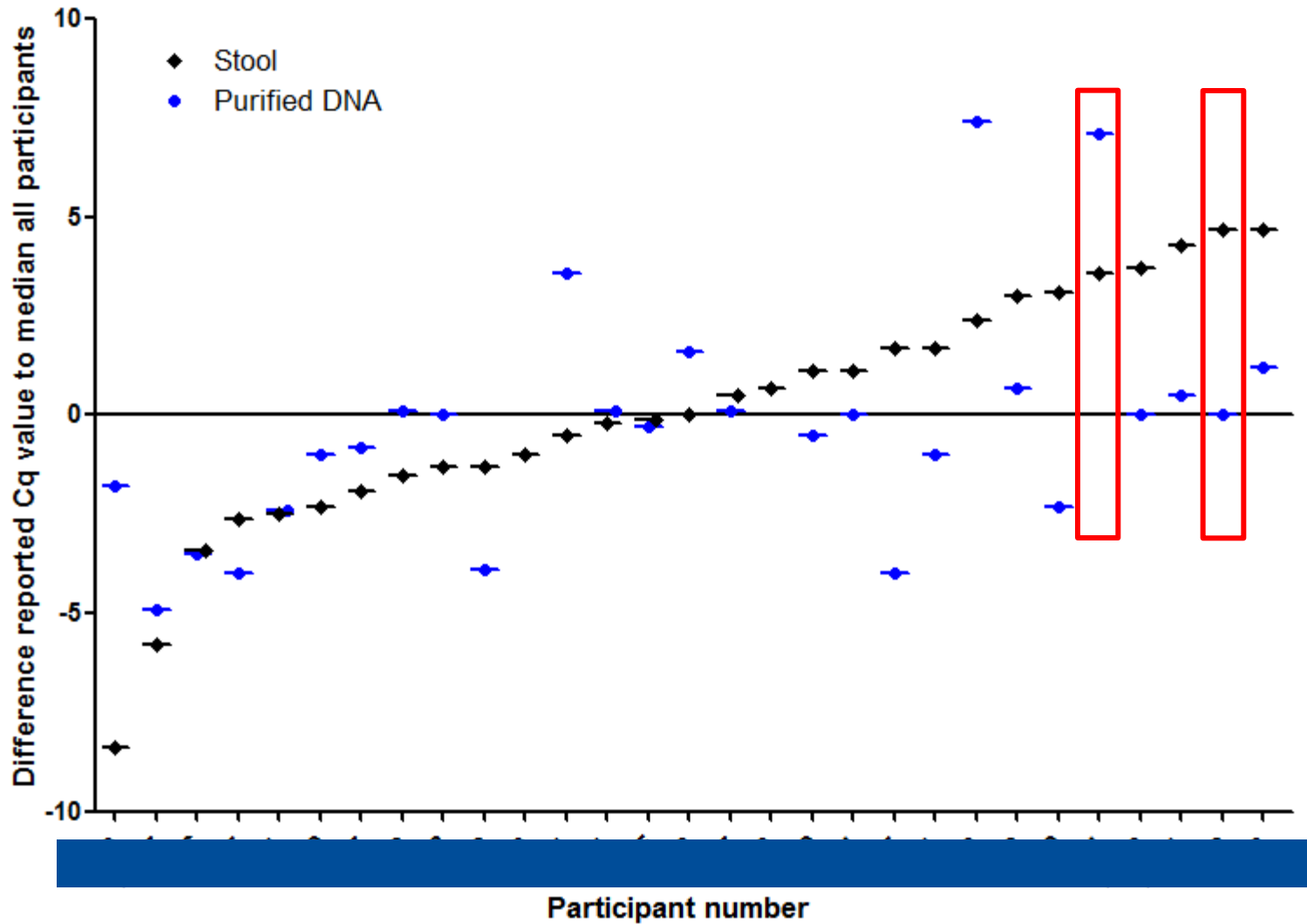
G. lamblia uitslagen feces en gezuiverd DNA



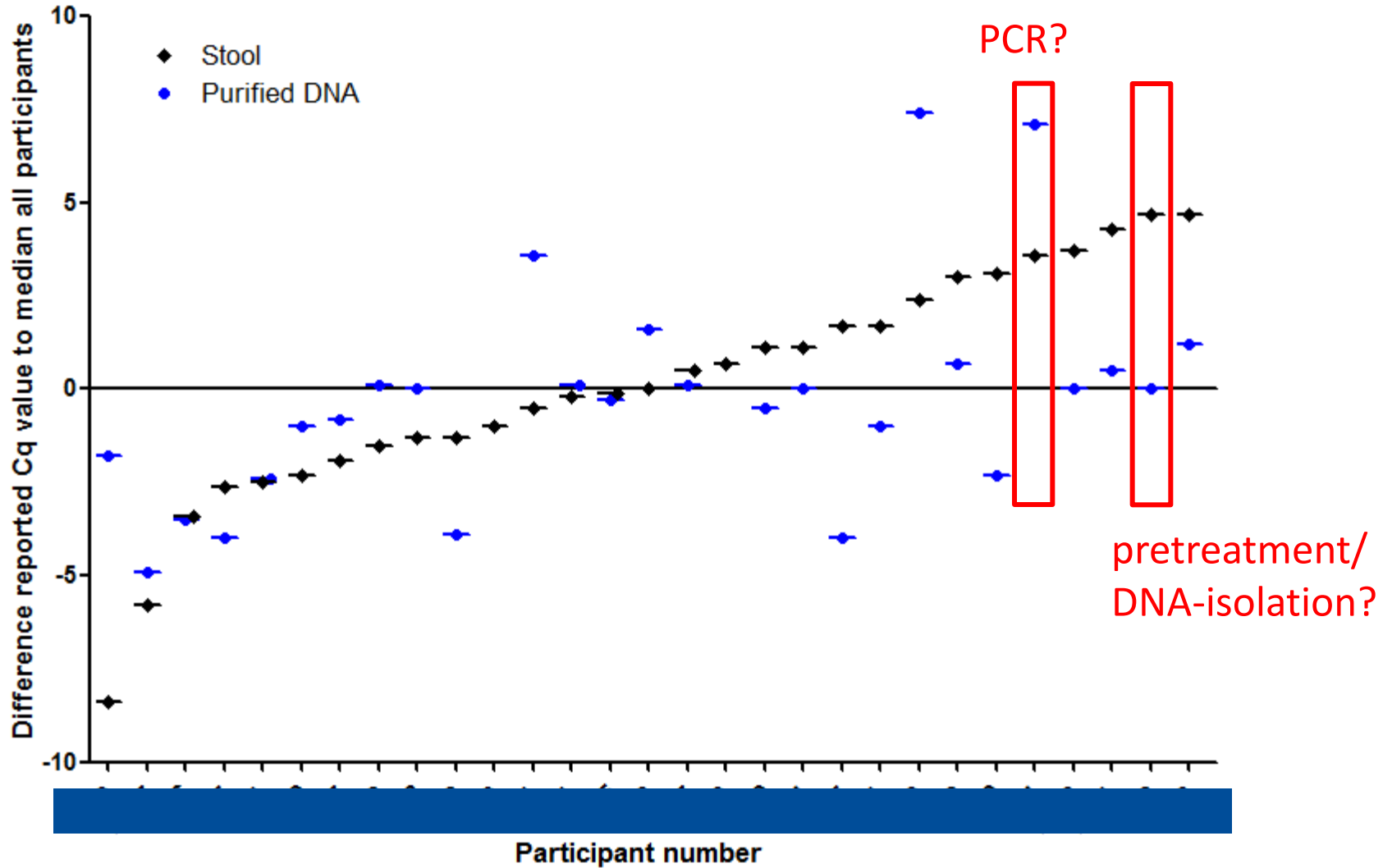
G.lamblia uitslagen feces en gezuiverd DNA



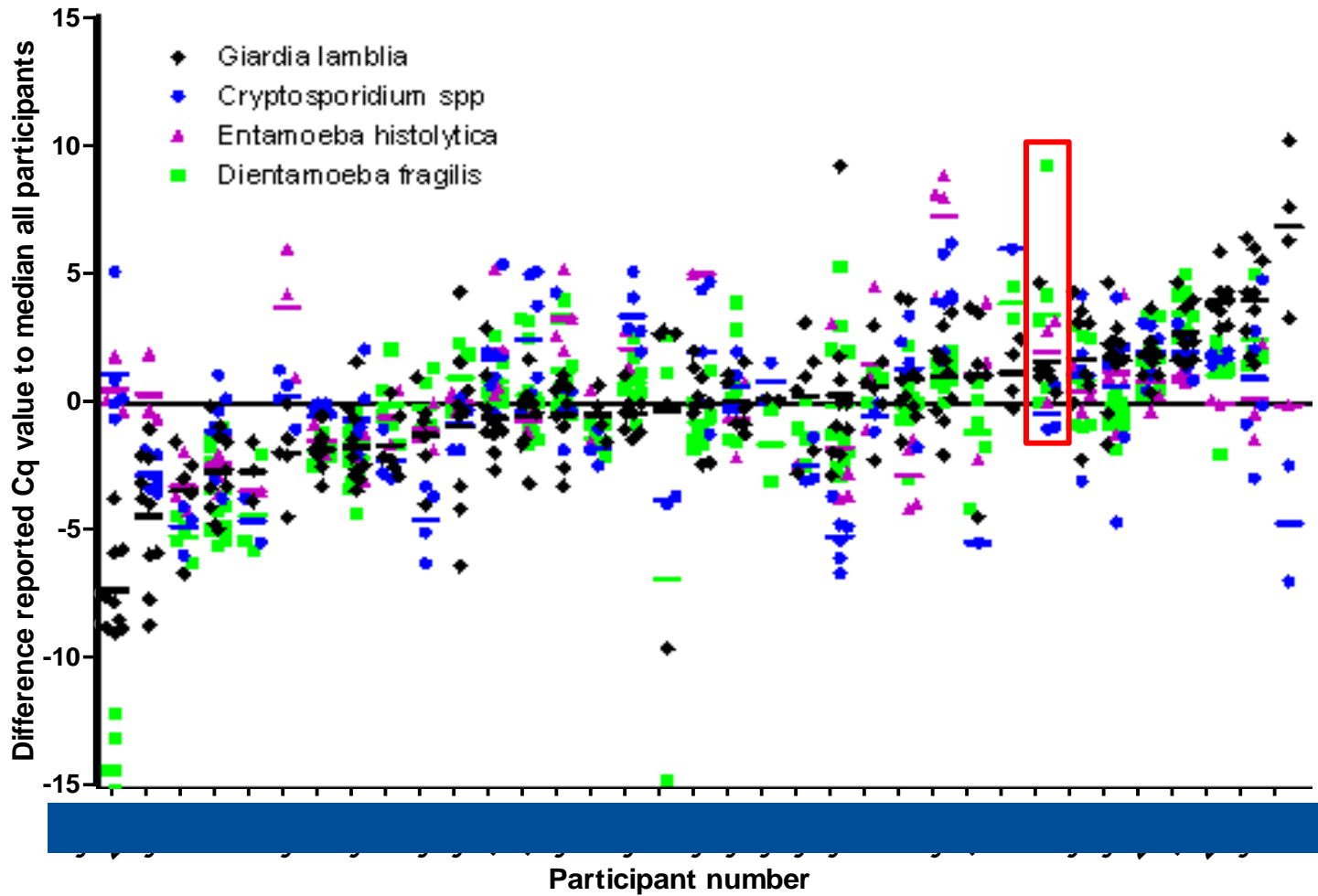
G.lamblia uitslagen feces en gezuiverd DNA



G.lamblia uitslagen feces en gezuiverd DNA



G.lamblia uitslagen feces en gezuiverd DNA



Samenvattend moleculaire rondzendingen SKML-parasitologie

Huidig:

- rondzending van stabiele en reproduceerbare monsters
- 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)

Toekomst:

- gezuiverd DNA rondsturen (voor alle pathogenen)
- koppeling aan methodiek



Stichting Kwaliteitsbewaking
Medische Laboratoriumdiagnostiek

Sectie Parasitologie

overzicht *Trichomonas vaginalis* 2015

	parasiet	n (correct)	n (totaal)	Cq	opmerkingen
2015.1A	negatief	26	26	-	
2015.1B	<i>T. vaginalis</i>	25	26	36 (33-41)	(1x FN)
2015.1C	<i>T. vaginalis.</i>	25	26	36 (33-40)	(1x FN)
2015.2A	<i>T. vaginalis</i>	28	28	26 (21-32)	
2015.2B	negatief	27	28	-	(1x FP)
2015.2C	<i>T. vaginalis</i>	28	28	30 (26-34)	

overzicht Trichomonas vaginalis 2015

	parasiet	n (correct)	n (totaal)	Cq	opmerkingen
2015.1A	negatief	26	26	-	
2015.1B	<i>T. vaginalis</i>	25	26	36 (33-41)	(1x FN)
2015.1C	<i>T. vaginalis.</i>	25	26	36 (33-40)	(1x FN)
2015.2A	<i>T. vaginalis</i>	28	28	26 (21-32)	
2015.2B	negatief	27	28	-	(1x FP)
2015.2C	<i>T. vaginalis</i>	28	28	30 (26-34)	

Conclusies: - goede scores
- enorme spreiding Cq waarden

