

CAT
Critically Appraised Topic

Titel: Wat is heden kwaliteitsvolle, tijdige en kostefficiënte laboratoriumdiagnostiek bij mannen en vrouwen met vermoeden van genitale infectie?

Author: dr. T. Vanwynsberghe
Supervisor: dr. J. Frans
Search/methodology verified by: dr. J. Frans
Date: 4/5/2010

CLINICAL BOTTOM LINE

Veel genitale pathogenen kunnen niet gevonden worden met klassieke cultuurmedia. Een screening door kweek voor niet-invasieve stalen is dus irrelevant. Daarom stellen de richtlijnen voor om die pathogenen specifiek aan te vragen en op te sporen. Veel tijd en kosten kunnen bespaard worden door een doorgedreven en consequente microscopie uit te voeren op de genitale stalen. Een praktisch algoritme wordt voorgesteld.

CLINICAL/DIAGNOSTIC SCENARIO

Er zijn enkele bestaansredenen voor deze CAT. De eerste drijfveer is de vaststelling dat de werkbelasting door genitale stalen, waarbij het dan hoofdzakelijk over vaginale stalen gaat, sterk is toegenomen in het AZ Imelda. Dit is een logisch gevolg van de toename van de medische staf op de dienst gynaecologie. Een tweede en zeker heel relevante drijfveer komt neer op het besef dat er momenteel nog geen vaste afspraken/beperkingen bestaan over welke genitale culturen uitgewerkt dienen te worden. Bijgevolg is er meestal een ad hoc beslissing genomen door de medische staf van het labo bacteriologie. In deze context is vaak een contact nodig met de aanvragende arts of tenminste een consultatie van het medisch dossier. Zoiets vergt tijd en energie. Daarom zal er in deze CAT kort en bondig worden bekeken op welke manier we de diagnostiek, en dan voornamelijk van de genitale cultuur, kunnen stroomlijnen op een gestandaardiseerde manier om zo mogelijk tijd en energie te sparen en consequent de relevante pathogenen op te sporen.

Bij mannen en vrouwen met vermoeden van een genitale infectie hebben we een aantal diagnostische mogelijkheden zoals microscopie (rechtstreeks onderzoek en na gramkleuring), sneltesten, culturen, en moleculaire diagnostiek. Voor elk van de relevante ziektebeelden zal worden nagegaan welke methoden de richtlijnen voorschrijven en welke kiemen moeten worden uitgewerkt.

Heel bewust worden herpes, HIV, HBV, HCV, HPV en syfilis buiten het bestek van de appraisal gelaten omdat ze niet meteen relateren aan de praktische problemen die aan de grondslag van dit werk liggen.

QUESTION(S)

- 1) *Welke genitale pathogenen kan men in het klinisch laboratorium opsporen voor welke ziektebeelden?*
- 2) *Welke diagnostiek wordt aanbevolen om deze relevante pathogenen op te sporen?*

SEARCH TERMS

- 1) Zoektermen: "genital cultures"; "genital tract infection"; [MeSH] "vaginitis"; [MeSH] "sexually transmitted diseases"
- 2) PubMed Clinical Queries (from 1966; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>): Systematic Reviews; Clinical Queries using Research Methodology Filters (diagnosis + specific, diagnosis + sensitive, prognosis + specific)
- 3) Pubmed (Medline; from 1966), SUMSearch (<http://sumsearch.uthscsa.edu/>), National Guideline Clearinghouse (<http://www.ngc.org/>), Cochrane (<http://www.update-software.com/cochrane>), Health Technology Assessment Database (<http://www.york.ac.uk/inst/crd/hta.htm>), CLSI, Handboeken
- 4) UpToDate Online version 17.3 (2010)

RELEVANT EVIDENCE/REFERENCES

- 1) Guidelines and Recommendations (most recent topics on top)
 1. White DJ, Vanthuyne A. Vulvovaginal candidiasis (VVC). In: Ross J, Ison C, Carder C, Lewis D, Mercey D, Young H (Editors). Sexually transmitted infections: UK national screening and testing guidelines. London (UK): British association for sexual health and HIV (BASHH); 2006: p68-75.
 2. Carder C, Mercey D, Benn P. Chlamydia trachomatis. In: Ross J, Ison C, Carder C, Lewis D, Mercey D, Young H (Editors). Sexually transmitted infections: UK national screening and testing guidelines. London (UK): British association for sexual health and HIV (BASHH); 2006: p26-32.
 3. Mabey D, Ackers J, Adu-Sarkodie Y. Trichomonas vaginalis infection. In: Ross J, Ison C, Carder C, Lewis D, Mercey D, Young H (Editors). Sexually transmitted infections: UK national screening and testing guidelines. London (UK): British association for sexual health and HIV (BASHH); 2006: p.63-7.
 4. Keane F, Ison C, Noble H, Estcourt C. Bacterial vaginosis. In: Ross J, Ison C, Carder C, Lewis D, Mercey D, Young H (Editors). Sexually transmitted infections: UK national screening and testing guidelines. London (UK): British association for sexual health and HIV (BASHH); 2006: p.40-6.
 5. Ison, C, Jungmann E, Bignell C. Gonorrhoea. In: Ross J, Ison C, Carder C, Lewis D, Mercey D, Young H (Editors). Sexually transmitted infections: UK national screening and testing guidelines. London (UK): British association for sexual health and HIV (BASHH); 2006: p.16-25.

⇒ **AGREE score voor bovenstaande guideline: 72/92**

 6. National guideline on the diagnosis and treatment of gonorrhoea in adults 2005. London (UK): British association for sexual health and HIV (BASHH); 2005.
 7. Dekker JH, Boeke AJP, Gercama AJ, Kardolus GJ, Boukes FS. NHG-standaard fluor vaginalis (eerste herziening). Huisarts Wet. 2005; 48: 459-66.
- 2) Systematic reviews and meta-analyses
geen
- 3) Reviews
 8. Donders GGG. Definition and classification of abnormal vaginal flora. Best Pract Res Cl Ob 2007; 21(3): 355-73.
 9. Larsson PG, Bergström M, Forsum U, Jacobsson B, Strand A, Wölner-Hanssen P. Bacterial vaginosis. Transmission, role in genital tract infection and pregnancy outcome: an enigma. APMIS 2005; 113: 233-45.
 10. Sobel JD. Vaginitis. N Engl J Med 1997; 337: 1896-1903.
- 4) Original Articles
 11. Tibaldi C, Cappello N, Latino MA, Masuelli G, Marini S, Benedetto C. Vaginal and endocervical microorganisms in symptomatic and asymptomatic non-pregnant females: risk factors and rates of occurrence. Clin Microbiol Infect 2009; 15: 670-9.
 12. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. J Clin Microbiol 1991; 29: 297-301.
 13. Larsen B, Monif GRG. Understanding the bacterial flora of the female genital tract. Clin Infect Dis 2001; 32: e69-e71.
 14. Piipo S, Lenko H, Vuento R. Vulvar symptoms in paediatric and adolescent patients. Acta paediatr 2000; 89: 431-5.
 15. Jacquieri A, Stylianopoulos A, Hogg S, et al. Vulvovaginitis: clinical features, aetiology, and microbiology of the genital tract. Arch Dis Child 1999; 81: 64-7.
 16. Manavi K, Young H, Clutterbuck D. Sensitivity of microscopy for the rapid diagnosis of gonorrhoea in men and women and the role of gonorrhoea serovars. Int J STD AIDS 2003; 14(6): 390-4.
 17. Ison CA. Laboratory methods in genitourinary medicine. Methods of diagnosing gonorrhoea. Genitourin Med 1990; 66(6): 453-9.
 18. Sherrard J, Barlow D. Gonorrhoea in men: clinical and diagnostic aspects. Genitourin Med 1996; 72: 422-6.

19. Lusk MJ, Naing Z, Rismanto N, et al. *Trichomonas vaginalis*: under-diagnosis in urban Australia could facilitate re-emergence. *Sex Transm Infect* 2009; Nov 1 [Epub]
20. Krieger JN, Tam MR, Stevens CE, et al. Diagnosis of trichomoniasis: comparison of conventional wet mount examination with cytological studies, cultures and monoclonal antibody staining of direct specimens. *J Am Med Assoc* 1988; 259: 1223-7.
21. Gallion HR, Dupree LJ, Scott TA, Arnold DH. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* in female children and adolescents evaluated for possible sexual abuse: a comparison of the InPouch TV culture method and wet mount microscopy. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2009; 22(5): 300-5.
22. Ison CA, Hay PE. Validation of a simplified grading of gram staining vaginal smears for use in genitourinary medicine clinics. *Sex Transm Infect* 2002; 78: 413-5.
23. Forsum U, Jakobsson T, Larsson PG, et al. An international study of the interobserver variation between interpretations of vaginal smear criteria of bacterial vaginosis. *APIMS* 2002; 110: 811-8.
24. Bruins MJ, Damoiseaux RA, Ruijs GJ. Association between Group A beta-haemolytic streptococci and vulvovaginitis in adult women: a case-control study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009; 28(8): 1019-21.
25. Jasper JM, Ward MA. *Shigella* vulvovaginitis in a prepubertal child. *Pediatr Emerg Care* 2006; 22(8): 585-6.
26. Taylor-Robinson D. Infections due to species of *Mycoplasma* and *Ureaplasma*: an update. *Clin Infect Dis* 1996; 23: 671-84.
27. Peeling RW. Utilisation of rapid tests for sexually transmitted infections: promises and challenges. *Open Infect Dis J* 2009; 3: 156-63.
28. Houang ET, Chu KC, Koehler AP, Cheng AF. Use of CHROMagar *Candida* for genital specimens in the diagnostic laboratory. *Journal of Clinical Pathology* 1997; 50(7):563-565.
29. Abbott J. Clinical and microscopic diagnosis of vaginal yeast infection: a prospective analysis. *Ann Emerg Med* 1995; 25(5):587-591.
30. Marot-Leblond A, Nail-Billaud S, Pilon F, Beucher B, Poulain D, Robert R. Efficient diagnosis of vulvovaginal candidiasis by use of a new rapid immunochromatography test. *J Clin Microbiol* 2009; 47(12): 3821-5.

5) Reference Works, Handbooks and Databases

31. Isenberg HD, Editor. *Guidelines for performance of genital cultures. Update of the Clinical Microbiology Procedures Handbook 2007*. Washington DC: ASM press; 2007.
32. Isenberg HD, Editor. *Neisseria gonorrhoeae cultures. Update of the Clinical Microbiology Procedures Handbook 2007*. Washington DC: ASM press; 2007.
33. Isenberg HD, Editor. *Parasite culture: Trichomonas vaginalis. Update of the Clinical Microbiology Procedures Handbook 2007*. Washington DC: ASM press; 2007.
34. Isenberg HD, Editor. *Mycoplasma pneumonia, Mycoplasma hominis, and Ureaplasma cultures from clinical specimens. Update of the Clinical Microbiology Procedures Handbook 2007*. Washington DC: ASM press; 2007.
35. Sobel JD. *Trichomonas vaginalis*. In: UpToDate, Barbieri RL (Ed), UpToDate, Waltham, MA, 2009.
36. Sobel JD. *Candida vulvovaginitis*. In: UpToDate, Barbieri RL (Ed), UpToDate, Waltham, MA, 2009.
37. Hicks CB. *Chancroid*. In: UpToDate, Bartlett JG (Ed), UpToDate, Waltham, MA, 2009.
38. Sobel JD. *Bacterial vaginosis*. In: UpToDate, Barbieri RL (Ed), UpToDate, Waltham, MA, 2009.
39. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, eds. *Manual of clinical microbiology*. 9th ed. Washington DC: ASM Press; 2007.
40. CLSI. M35-A2: *Abbreviated identification of bacteria and yeast; approved guideline – second edition*. 2008.

6) Posters, “grey literature”, presentations geen

1. Welke genitale pathogenen kan men in het klinisch laboratorium opsporen voor welke ziektebeelden?

Normale flora

Wanneer de verwekker van een genitale infectie moet worden gezocht is het belangrijk om te weten welke bacteriën tot de normale flora van de genitale tractus behoren.

Bij de volwassen vrouw vinden we in de vagina hoofdzakelijk lactobacillen terug. Maar ook corynebacteriën, Gardnerella vaginalis, coagulase-negatieve stafylokokken (CNS), S. aureus, S. agalactiae, enterokokken, E. coli, anaëroben en gisten komen normaal in kleine aantallen voor [13]. De lactobacillen creëren een zure omgeving in de vagina en produceren bacteriocines waardoor andere bacteriën worden onderdrukt. Er zijn veel verschillende species, maar de meest frequent zijn L. jensenii, L. gasseri, L. iners, en L. crispatus. Daarenboven blijkt dat een lactobacillen-deficiënte omgeving geassocieerd wordt met genitale infecties: seksueel overdraagbare aandoeningen (SOA's) worden makkelijker overgebracht [8].

Het is opmerkelijk dat de normale vaginale flora gekoppeld is aan de hormonale status. Zo domineren bijvoorbeeld corynebacteriën en CNS bij pre-pubertale meisjes en neemt het aantal lactobacillen gevoelig af na de menopauze ten voordele van de enterobacteriaceae [31].

Bij de man vinden we in de urethra een beperkte microbiële flora die bestaat uit kiemen die ook op de huid worden teruggevonden zoals CNS, corynebacteriën en viridansstreptokokken.

Ziektebeelden

Een uitgebreide waaier aan ziektebeelden kunnen zich voordoen ter hoogte van de genitale tractus van vrouw en man. We kunnen deze genitale infecties ruwweg onderverdelen in seksueel overdraagbare aandoeningen (infectieziekten die overgedragen worden door seksueel contact) en niet-seksueel overdraagbare aandoeningen (bv. vulvovaginale candidiase).

Bij de SOA's kunnen we verder obligate pathogenen onderscheiden en sporadische pathogenen.

- Obligat pathogenen:
 - N. gonorrhoeae,
 - C. trachomatis,
 - HIV,
 - HAV,
 - HBV,
 - HCV,
 - HSV,
 - H. ducreyi,
 - HPV,
 - T. pallidum
- Sporadisch pathogeen:
 - bacteriële vaginose (complex samenspel van meerdere bacteriën),
 - T. vaginalis

Onderstaande overzichtelijke tabellen uit Isenberg tonen duidelijk welke micro-organismen voor welke genitale infecties verantwoordelijk zijn (Tabel 1, 2, 3). Merk op dat een aantal pathogenen eigenlijk ook tot de normale genitale flora behoren en dus aanleiding kunnen geven tot een endogene infectie. Dit heeft implicaties voor de diagnostiek (cf. infra). Daarnaast staat vast dat veel pathogenen niet kunnen gevonden worden met klassieke cultuurmedia. Een screening door kweek is dus irrelevant.

Tibaldi en anderen stellen vast dat bij pre-pubertale meisjes met genitale symptomen zoals vaginaal verlies, vulvaire of vaginale klachten in 67% van de gevallen geen genitale pathogeen kan worden geïsoleerd [38]. Zij besluiten hieruit dat veel genitale klachten eerder het gevolg

zouden zijn van slechte hygiëne, chemische irritantia en/of het gebrek aan oestrogeeneffect. Deze hypothese is reeds door anderen geopperd [14, 15].

2. Welke diagnostiek wordt aanbevolen om deze relevante pathogenen op te sporen?

Microscopie

De vraag werpt zich op welke pathogenen we reeds met microscopie kunnen diagnosticeren. In ervaren handen is microscopie op basis van een gramkleuring (gramnegatieve diplokokken) of kleuring met methyleenblauw een uitstekende methode om *gonorrhoe* te diagnosticeren bij symptomatische mannen (urethraal verlies) met een sensitiviteit van $\geq 95\%$ en een zeer goede specificiteit [17, 18]. Bij asymptomatische mannen en bij vrouwen heeft deze microscopie te kampen met een veel lagere sensitiviteit ($\leq 55\%$). Het is interessant hierbij op te merken dat bepaalde serovars telkens gepaard gaan met negatieve microscopie, bv. serovars 1A05, 1A21 en B08 bij heteroseksuele mannen [16]. Daarom moet men bij de diagnostiek van gonorrhoe de microscopie sowieso aanvullen met een cultuur voor gonokokken. Of een PCR voor *N. gonorrhoeae* dan nog opportuun is, is maar de vraag, want de terugbetaling (B400) is maar pover waardoor deze test weinig kostefficiënt wordt ten opzichte van microscopie + cultuur.

Trichomonas vaginalis probeert men dikwijls via microscopie op te sporen. Via een vers ongekleurd preparaat, de zogenaamde “wet mount”, zoekt men naar de beweeglijke protozoa die flagellen bezitten. De pre-analytische fase is bij deze diagnostiek zeer belangrijk aangezien de beweeglijkheid van *T. vaginalis* achteruitgaat in de tijd (10-20 min) en door afkoeling. Met een sensitiviteit van hoogstens 70% kan deze test niet als screeningstest gebruikt worden [19-21]. Rechtstreeks onderzoek voor *T. vaginalis* door de gynaecoloog gebeurt in ons ziekenhuis zelden (Mondelinge communicatie met assistente gynaecologie). Praktisch altijd kan men bij *Trichomonas vaginitis* concomitant een verhoogde vaginale pH ($>4,5$) vinden met een toename van het aantal leukocyten. Daarnaast is het via een gramkleuring eveneens mogelijk om *T. vaginalis* te diagnosticeren.

Bij mannen is er voor de diagnostiek van *T. vaginalis* weinig plaats aangezien deze infectie gewoonlijk asymptomatisch en transiënt verloopt met restitutio ad integrum binnen de tien dagen. In de zeldzame symptomatische mannen heeft microscopie een veel te lage sensitiviteit en is eerder PCR op de eerste portie van de ochtendurine aangewezen, maar deze test is nog niet voldoende commercieel beschikbaar [35].

Ook bij klinisch vermoeden van genitale *Candida-infecties* kan microscopie een nuttige bijdrage leveren. Wanneer men bij vrouwen met een vaginale pH van 4-4,5 een vers preparaat met een druppel KOH (dat de cellulaire elementen vernietigt) maakt en hierbij hyphae en kiemende gistcellen vaststelt, dan heeft men een bevestiging van het klinische vermoeden (sens. 61%, spec. 77%) [29, 36]. Een gramkleuring kan ook worden gebruikt en is in een routine microbiologisch labo veel handiger omdat er geen extra handelingen nodig zijn (sens. 65%, spec. 100%) [29]. De mate van hyphae en gistcellen die worden gevonden, is gecorreleerd aan de klinische belasting [1].

Uiteraard heeft dit enkel zin bij symptomatische vrouwen aangezien *Candida* tot de normale vaginale flora behoort bij veel vrouwen. In 80-90% van de gevallen gaat het om *Candida albicans*. Maar men merkt al lang een toenemende frequentie van *Candida glabrata* [36].

De meest frequente oorzaak van vaginaal verlies bij vrouwen in de vruchtbare periode is *bacteriële vaginose* (BV). Voor de diagnostiek kunnen twee verschillende algoritmen worden gevolgd.

- Enerzijds kan de diagnose berusten op een samenspel van laboratoriumgegevens en klinische bevindingen gedefinieerd in de *Amsel criteria*. Minstens drie van volgende bevindingen moeten dan worden gevonden:
 - een homogeen wit adherent vaginaal verlies,

- een vaginale pH >4,5 (normaal 3,8-4,2),
- een positieve 'Whiff test' (aminegeur bij KOH toevoeging),
- de aanwezigheid van clue cells [4, 27].

Er dient opgemerkt dat *Trichomonas vaginalis* ook enkele van deze symptomen kan veroorzaken. Het probleem met deze methode is de subjectiviteit en het gebruik van caustische stoffen (zoals KOH).

- Een alternatieve methode is het *Nugent scoresysteem* (Tabel 4) waarbij de aanwezige kiemen van de vaginale flora worden gescoord [12]. Deze methode is wel tijdrovend en vergt enige expertise.
- Daarom stelt de BASSH in haar richtlijnen voor om bij deze microscopische diagnostiek het gemodificeerde *Ison-Hay scoresysteem* (Tabel 5), dat vijf 'flora-graden' definieert, te gebruiken. Dit scoresysteem correleert goed met de Amsel criteria, er zijn geen caustische stoffen nodig, en de resultaten zijn makkelijk reproduceerbaar [22, 23]. Graad III komt hierbij overeen met bacteriële vaginose. Ten opzichte van deze Ison-Hay score via gramkleuring hebben de eerder vernoemde Amsel criteria een sensitiviteit van 90% en een specificiteit van 77% voor de diagnose van BV [38].

Conclusie: Bij bacteriële vaginose (via de Ison-Hay score), *T. vaginalis* en vaginale candidiase kan de diagnose al gesteld worden op basis van microscopie. In de diagnostiek van gonorrhoe is de microscopie reeds diagnostisch bij symptomatische mannen. De vraag kan hierbij gesteld worden of dure PCR nog nodig is bij een positieve microscopie voor gonorrhoe. Microscopie is dus een essentieel onderdeel in het snel en goedkoop bepalen van de etiologie van genitale infecties.

Cultuur

Genitale stalen die niet in een gepast medium (swab in Amies medium) worden getransporteerd, zouden geweigerd moeten worden. Het is namelijk zo dat de potentiële pathogenen snel hun viabiliteit verliezen (bv. *N. gonorrhoeae*). Het is belangrijk zich te realiseren dat bij kweek van genitale stalen ook commensale flora zal groeien. Een routinekweek van genitale stalen heeft daarom vaak weinig zin. Uitzonderingen daarop zijn kinderen en post-menopauzale vrouwen, maar bij voorkeur wordt een routinekweek enkel op indicatie uitgevoerd. Het opzet van het microbiologisch laboratorium zou erin moeten bestaan dat enkel pathogenen worden gerapporteerd aan de klinici [31].

De cultuurmedia die gebruikt worden kunnen in twee soorten onderverdeeld worden: de klassieke media (bloedplaat, McConkey agar, ...) en specifieke media (Granada, Thayer-Martin, ...). Isenberg raadt aan om voor cervicale, vaginale en andere niet-invasieve genitale stalen volgende media te gebruiken:

- chocoladeagar,
- bloedagar,
- een selectief medium voor *N. gonorrhoeae*,
- McConkey agar,
- colistine-nalidixinezuur agar (of een andere selectieve plaat voor grampositieve bacteriën).

Men stelt wel duidelijk voor om pathogenen specifiek op te sporen, eerder dan een screening van wat er aanwezig is (cf supra) [31].

De praktijkrichtlijn voor de diagnose en behandeling van fluor vaginalis van het Nederlands Huisartsen Genootschap (NHG) acht een kweek op méér dan alleen gisten zelfs niet zinvol. De andere meest frequente verwekkers van vaginaal verlies moeten hierbij met snelle microscopische testjes (voor *T. vaginalis* en bacteriële vaginose) en specifiek onderzoek (voor *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, en *T. vaginalis*) worden opgespoord [7].

De meeste richtlijnen zijn heel restrictief wat de kweek van genitale stalen betreft. Invasieve stalen moeten altijd gekweekt worden. Indien een cultuur toch opportuun zou zijn, dan moeten volgende micro-organismen altijd gezocht en gerapporteerd worden:

- groep A streptokokken,
- groep B streptokokken,
- *Listeria monocytogenes*,
- *C. albicans* (*Candida* spp.),
- *N. gonorrhoeae* [24, 31].

Bij stalen van jonge meisjes met bloederig genitaal verlies zou men een zeldzame *Shigella* vulvovaginitis moeten uitsluiten [25].

Een aantal bacteriën worden enkel verder uitgewerkt indien ze massaal voorkomen en de voornaamste groeier zijn (of uit een invasief staal komen). Het gaat om:

- gramnegatieve staven (Cave: de enterobacteriaceae behoren tot de normale vaginale flora),
- *Staphylococcus aureus*,
- *Streptococcus pneumoniae*,
- *Neisseria meningitidis*,
- *Haemophilus* spp.,
- *Gardnerella vaginalis*.

Deze laatste moet bij genitale stalen van kinderen steeds gerapporteerd worden. Het is belangrijk er rekening mee te houden dat een positieve cultuur van een seksueel overdraagbare aandoening altijd relevant is, ongeacht de genitale lokalisatie [31].

Gezien de zeer lage prevalentie van *Haemophilus ducreyi*, verwekker van chancroid, in onze westerse wereld, wordt deze kiem niet systematisch opgespoord. Er moet wel aan gedacht worden indien de patiënt naar de tropen is gereisd of eruit afkomstig is [37].

Bij vermoeden van vulvovaginale candidiase is een specifieke kweek voor gisten altijd geïndiceerd. Bovendien is het zeer nuttig om daarbij te differentiëren tussen *C. albicans* en *C. non-albicans* met een chromogene plaat [28]. De groei zou als volgt gerapporteerd moeten worden [1]:

- Geen groei
- Lichte groei (<10 kolonies/plaat)
- Matige groei (10-99 kolonies/plaat)
- Zware groei (>100 kolonies/plaat).

Helaas is deze voorgestelde rapportering gebaseerd op wazige standaardisatie en praktisch niet bruikbaar in een routine microbiologisch labo. De sensitiviteit van de *Candida* kweek is zeer hoog (100% op Sabouraud dextrose agar), maar de specificiteit is laag (82% op Sabouraud dextrose agar) [30]. Gekoppeld aan de microscopie die insensitief maar specifiek is, kan men goeie en goedkope diagnostiek bekomen.

Voor de diagnose van gonorrhoe is de kweek van *N. gonorrhoeae* nog altijd de hoeksteen [6, 32]. Bovendien neemt wereldwijd de resistentie van gonokokken toe [27]. In die context is het zeer handig om een antibiogram te kunnen uitvoeren. Maar *N. gonorrhoeae* is een zeer moeilijk groeiende bacterie die een zeer rijke bodem vereist (bv. GC-Lect, BD) die voldoende selectief is door keuze van de juiste antibiotica.

De bacterie is gevoelig aan uitdroging en/of afkoeling. Daarom is een rechtstreeks uitplating bij de clinicus vereist of een transportwab die de viabiliteit van de kiem bewaart (bv. eSwab, Copan). Die rechtstreekse platen moeten op 36°C +/- 1°C en in 5-7% CO₂ het labo bereiken [5, 39]. Een transportwab is dus praktischer omdat deze zelfs tijdelijk op koelkasttemperatuur kan bewaard worden. In optimale pre-analytische omstandigheden heeft de kweek van *N. gonorrhoeae* een sensitiviteit van 85-95% voor urethrale en endocervicale stalen. Deze sensitiviteit daalt drastisch bij een slechte pre-analytische fase [5, 6]. De specificiteit is 100% bij een biochemische bevestiging: oxidase-positieve gramnegatieve kokken, beta-galactosidase

negatief, gamma-glutamyl-aminopeptidase negatief en sterke reactie op 30% waterstofperoxide [40]. Het is belangrijk op te merken dat cultuur voor gonokokken op urine af te raden is, zeker bij vrouwen omdat de opbrengst bij hen veel lager is door de kortere urethra [32]. In de rapportering naar de clinicus moet men vermelden dat een negatieve cultuur de aandoening niet uitsluit!

In de diagnostiek van *Trichomonas vaginalis*, een seksueel overdraagbare aandoening met een incidentie van 180 miljoen gevallen per jaar wereldwijd, is de cultuur de gouden standaard. Zowel vaginale stalen als sperma, prostaatvocht, en urethrale stalen van de man kunnen gebruikt worden voor deze kweek. Urinestalen worden best vermeden, zeker bij vrouwen, omwille van dezelfde reden zoals bij gonokokken [21, 33]. Net als bij *N. gonorrhoeae* is de kweek van *T. vaginalis* sterk afhankelijk van de pre-analytische fase, want niet-leefbare micro-organismen leiden tot een negatieve cultuur. Speciale media zijn ontwikkeld voor een optimale kweek, bv. “Diamond’s trypticase – yeast extract – maltose (TYM) complete medium”. Er zijn ook kant-en-klare pakketten voor transport én cultuur op de markt zoals het “InPouch TV System” van BioMed Diagnostics die zeer gevoelig, specifiek, en hygiënisch zijn, maar relatief duur (288 dollar voor 100 testen) [3, 21]. De cultuur van *T. vaginalis* moet vijf dagen geïncubeerd worden en telkens gekoppeld worden aan de microscopie (wet mount en/of gramkleuring) [33].

Ureaplasma urealyticum en *Mycoplasma hominis* kunnen tot de commensale genitale flora behoren, maar zijn vaak verwekkers van genitale infecties [26, 34]. De kweek is de voorkeursmethode voor diagnostiek. De uiteindelijke diagnose berust op het pathognomonische microscopisch uitzicht van de kolonies. Zo presenteren *Ureaplasma* spp. (identificatie tot op speciesniveau is niet vereist) zich als kleine bruine granulaire kolonies. Kolonies van *Mycoplasma hominis* zien eruit als ‘omelet’-kolonies waarbij groei-inhibitie plaatsvindt na toevoeging van homolog antiserum [34].

Conclusie: Een screeningkweek is slechts in bepaalde situaties te verdedigen. Invasieve genitale stalen moeten sowieso in cultuur gebracht worden. Voor *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis*, *U. urealyticum* en *M. hominis* vormt de cultuur de gouden standaard.

PCR

Afhankelijk van de technische voorzieningen en know-how, de nood aan een gevoeligheidsbepaling en de financiële middelen kan men in bepaalde situaties gebruik maken van moleculaire biologie. Vooral bij moeilijk kweekbare kiemen kan PCR een uitkomst bieden. Zo wordt vaak bij vermoeden van *N. gonorrhoeae* een PCR uitgevoerd. Toch blijft de cultuur de basis van de diagnose omdat de PCR voor *N. gonorrhoeae* niet voor alle lokalisaties even goed geëvalueerd is (bv. faryngeale en rectale stalen) [5]. Niettemin kan PCR een verbetering in sensitiviteit betekenen omdat ook niet-viabele kiemen nog gedetecteerd kunnen worden. De PCR’s voor *N. gonorrhoeae* en *C. trachomatis* die we in ons moleculair labo uitvoeren, worden relatief slecht terugbetaald: resp. B400 en B1000 waardoor deze testen duur zijn.

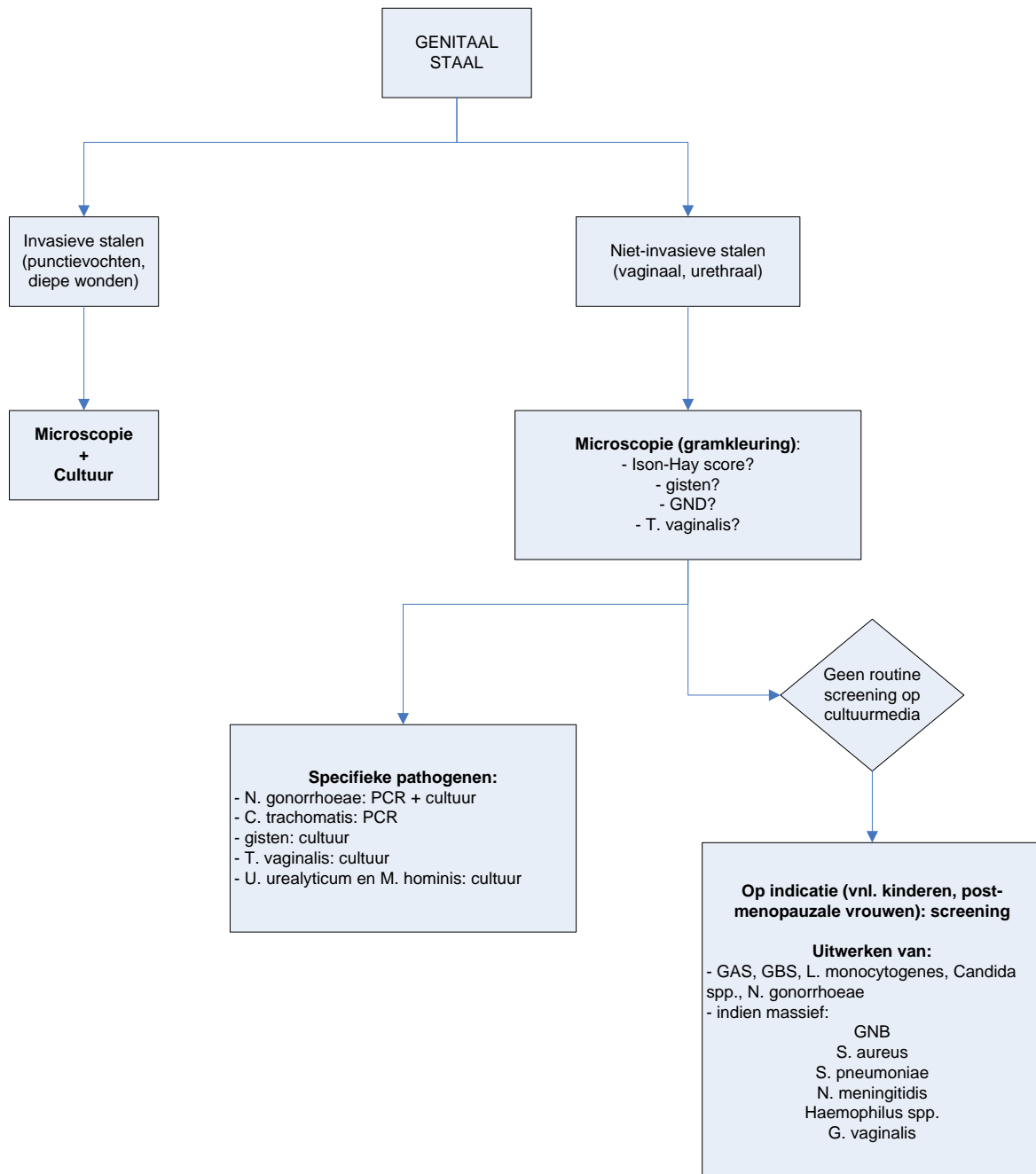
Hier volgt een kort overzicht van die situaties waarbij de moleculaire biologie aanbevolen is. PCR-testen voor *N. gonorrhoeae* en *C. trachomatis* behoren tot de routinetesten in de meeste laboratoria voor moleculaire biologie. Tabel 6 toont bij welke afnameplaatsen de richtlijnen van de BASHH een NAAT (Nucleic Acid Amplification Test) aanbevelen voor *N. gonorrhoeae* en *C. trachomatis*. Daarbij worden patiënten opgedeeld in 5 groepen, met name: de asymptomatische heteroseksuele man, de asymptomatische homoseksuele man, de asymptomatische vrouw, de man met urethraal verlies, en de vrouw met genitaal verlies. PCR’s voor *T. vaginalis* en *Candida*-infecties kennen nog geen commerciële toepassingen. De plaats van deze technologie is vooralsnog onduidelijk.

Conclusie: PCR is handig bij moeilijk kweekbare kiemen. In welomschreven gevallen (zie tabel 6) vormt de PCR de beste diagnostiek voor *N. gonorrhoeae* en *C. trachomatis*.

Comments

TO DO/ACTIONS

- 1) Analyse van de impact van het toepassen van de conclusies uit deze CAT op de werkbelasting op het labo microbiologie.
- 2) Een nieuw algoritme uitwerken (voorstel in onderstaand schema) om genitale stalen microbiologisch uit te werken + eventueel aanpassing van aanvraagbrief en labogids.
- 3) Overleg met de aanvragers (gynaecologen, urologen) i.v.m. gericht aanvragen.
- 4) Opleiding van MLT's met interindividual tuning.



ATTACHMENTS

Attachment I: genitale infecties bij vrouwen

Clinical syndrome	Location of infection	Clinical symptoms/signs	Primary pathogen(s)	Specimen(s) collected
Bartholinitis	Bartholin gland	Pain, induration, and redness of gland area	<i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> Enteric bacteria (e.g., <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , and other enteric GNB ^a) plus anaerobes <i>Ureaplasma urealyticum</i>	Aspirate of gland Swab of abscess pus
Cervicitis	Endocervical canal	Mucopurulent discharge, pain with movement of the cervix (dyspareunia). HSV primarily causes blisters and painful ulcers of the external cervical os.	<i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> HSV	Endocervical swab Ulcer swab for viral culture
Genital ulcer with inguinal lymphadenopathy	Skin and soft tissues of the genital area and inguinal lymph nodes	Genital ulcer(s) in syphilis, LGV, ^b and granuloma inguinale (donovanosis) are usually painless. Chancroid ulcer is typically painful, with undermined edges. Inguinal lymphadenopathy may occur on one or both sides.	<i>Calymmatobacterium granulomatis</i> (donovanosis) <i>Chlamydia trachomatis</i> —LGV serovars <i>Haemophilus ducreyi</i> (chancroid) <i>Treponema pallidum</i> (syphilis)	Ulcer scrapings Inguinal lymph node aspirate Dark-field exam Syphilis serology LGV serology
Endometritis ^c	Endometrial lining of the uterus	Fever, leukocytosis, pelvic pain, cramps, abnormal bloody discharge or spotting	<i>Actinomyces</i> spp. <i>Chlamydia trachomatis</i> Enteric bacteria (e.g., <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , and other enteric GNB) plus anaerobes <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>	Transvaginal aspirate or biopsy sample of endometrium
Salpingitis (PID)	Ascending infection of the fallopian tubes and peritoneal cavity, with the formation of abscesses	Fever, leukocytosis, lower abdominal and pelvic pain associated with discharge	<i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> Enteric bacteria (e.g., <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , and other enteric GNB) plus anaerobes <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>	Culdocentesis Laparoscopy sample of fallopian tube and pelvic abscesses
Skenitis	Skene's gland	Pain, induration, and redness in the gland area	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Aspirate of gland Swab of abscess pus
Urethritis, urethral syndrome	Urethra	Dysuria with initiation of urination, urethral discharge, and pain. Cystitis should be ruled out by doing a urine culture.	<i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Mycoplasma genitalium</i> <i>Ureaplasma urealyticum</i>	Urethral swab Urine culture
Vaginosis	Vagina	Vaginal discharge that may be fishy or foul smelling, pruritus, terminal dysuria, painful intercourse	<i>Candida</i> spp. <i>Gardnerella vaginalis</i> <i>Mobiluncus</i> <i>Trichomonas vaginalis</i>	Vaginal swab

Table 3.9.1-1 Female genital infections that are sexually transmitted (continued)

Clinical syndrome	Location of infection	Clinical symptoms/signs	Primary pathogen(s)	Specimen(s) collected
Vulvovaginitis	Vagina and vulva	Pruritus, redness of the skin, white curd-like discharge, macerate skin, and terminal dysuria	<i>Candida</i> spp. <i>Staphylococcus aureus</i> ^d	Vaginal swab Vulval swab
Vulvovaginal, perineal ulcers	Vagina, vulva, perineum	Painful blisters on an erythematous base, ulcers	HSV	Ulcer swab for viral culture

^a GNB, gram-negative bacillus.

^b LGV, lymphogranuloma venereum.

^c Associated with use of intrauterine device.

^d In wounds, TSS, and tampon-associated ulcerations.

Attachment 2: genitale infecties bij mannen

Table 3.9.1–3 Male genital infections

Clinical syndrome	Location of infection	Clinical symptoms and signs	Primary pathogen(s)	Specimen(s) collected
Balanoposthitis	Head of penis and foreskin	Pain, swelling, exudates and pus under foreskin	Enteric bacteria (e.g., <i>Escherichia coli</i> and other <i>Enterobacteriaceae</i>) plus anaerobes <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Swab from under foreskin
Epididymitis	Epididymus	Pain, swelling, tenderness of scrotum and epididymus	<i>Chlamydia trachomatis</i> Enteric bacteria (e.g., <i>Escherichia coli</i> and other <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Enterococcus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp.) <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Urethral swab Urine culture Epididymus tissue
Orchitis	Testes	Pain, swelling, tenderness of scrotum	<i>Chlamydia trachomatis</i> Enteric bacteria (e.g., <i>Escherichia coli</i> and other <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Enterococcus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp.) <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Urethral swab Urine culture Testicular tissue
Prostatic abscess	Prostate gland	Dysuria, frequency, decreased urinary stream or obstruction, passing air on urination if vesiculoenteric fistula	Enteric bacteria (e.g., <i>Escherichia coli</i> and other <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Enterococcus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp.) <i>Staphylococcus aureus</i>	Swab abscess Abscess fluid/pus
Prostatitis	Prostate gland	Dysuria, frequency, decreased urinary stream or obstruction	Enteric bacteria (e.g., <i>Escherichia coli</i> and other <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Enterococcus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp.) <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Urine culture ^a Urethral swab Prostatic fluid
Urethritis	Urethra	Dysuria, mucopurulent discharge, urethral Gram stain shows >4 PMNs/per oil immersion field	<i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> HSV <i>Mycoplasma genitalium</i> <i>Ureaplasma urealyticum</i> <i>Trichomonas vaginalis</i>	Urethral swab DFA ^b /viral culture Wet mount of urethral secretions

^a See Table 3.9.1–5 and Appendix 3.9.1–2.

^b DFA, direct fluorescent antibody.

Attachment 3: genitale infecties bij zwangere of net bevallen vrouwen

Table 3.9.1–2 Female genital infection clinical syndromes associated with intrapartum, postpartum, and postabortal infections

Clinical syndrome	Location of infection	Clinical symptoms and signs	Primary pathogen(s)	Specimen(s) collected
Intra-amniotic infection syndrome	Uterus and its contents during pregnancy, including the amniotic membrane and fluid	Fever, leukocytosis, abdominal pain, uterine tenderness, premature rupture of membranes, bacteremia. May cause premature labor and delivery.	Enteric bacteria (e.g., <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , and other enteric GNB ^a) plus anaerobes <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>	Amniotic fluid Amniotic tissue Blood cultures
Postpartum endometritis, endomyometritis, endoparametritis	Endometrium and uterine muscle	Fever, leukocytosis, abdominal pain, uterine tenderness, foul-smelling lochia/discharge, bacteremia	<i>Chlamydia trachomatis</i> Enteric bacteria (e.g., <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , and other enteric GNB) plus anaerobes <i>Gardnerella vaginalis</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>	Transvaginal aspirate of endometrium Endometrial tissue Blood cultures
Puerperal sepsis/septic abortion	Endometrium and uterine muscle and pelvis	Fever, leukocytosis, abdominal pain, uterine tenderness, foul-smelling lochia/discharge, hypotension, bacteremia	<i>Clostridium perfringens</i> and other anaerobes Enteric bacteria (e.g., <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , and other enteric GNB) <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>	Transvaginal aspirate of endometrium Endometrial tissue Blood cultures
Septic pelvic thrombophlebitis	Deep pelvic veins	Refractory postpartum fever and leukocytosis with no other obvious focus of infection. CT ^b scan shows uterine vein thrombosis.	Enteric bacteria (e.g., <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , and other enteric GNB) plus anaerobes <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>	Blood cultures

^a GNB, gram-negative bacillus.

^b CT, computed tomography.

Attachment 4: Nugent Criteria

Table 3.2.1–A1 Standardized scoring method for evaluation of Gram stains for BV

Quantitation of bacterial morphotype ^a	Points scored per morphotype				
	None	1+	2+	3+	4+
Medium to large gram-positive rods	4	3	2	1	0
Small gram-negative or -variable rods	0	1	2	3	4
Curved gram-negative or -variable rods	0	1	1	2	2

^a Modified from Nugent et al. (4) using quantitation from the Gram stain procedure. Circle in each row the number that corresponds to the quantitation visualized in the smear. Add circled numbers to arrive at total score. Interpret as follows: 0 to 3, normal; 4 to 6, intermediate; and 7 to 10, BV.

Attachement 5: Ison-Hay classificatie

Graad 0	Epitheelcellen zonder bacteriën
Graad I	Normale vaginale flora (lactobacillen)
Graad II	Verminderde hoeveelheid lactobacillen + gemengde flora
Graad III	Enkel gemengde flora, geen tot weinig lactobacillen
Graad IV	Enkel grampositieve kokken

Attachement 6: Richtlijnen BASHH NAAT voor N. gonorrhoeae en C. trachomatis

	Asymp. hetero man		Asymp. homo man		Asymp. vrouw		Symp. man		Symp. vrouw	
	NG	CT	NG	CT	NG	CT	NG	CT	NG	CT
Urethra	Cultuur	NAAT	Cultuur	NAAT	NA	NA	Microscopie + Cultuur	NAAT	Microscopie + Cultuur	NA
Cervix					Cultuur	NAAT			Microscopie + Cultuur	NAAT
Vagina					NA	NAAT			NAAT**	NAAT**
Rectum	NA	NA	Cultuur	NAAT	NA	NA	Cultuur	Weefsel cultuur*	Cultuur	Weefsel cultuur
Oropharynx	NA	NA	Cultuur	NA	NA	NA	Cultuur	Weefsel cultuur*	Cultuur	Weefsel cultuur
Urine	NAAT	NAAT	NAAT	NAAT	NA	NAAT	NAAT	NAAT	NA	NAAT
blood	NA	NA	NA	NA	NA	NA				

NG: N. gonorrhoeae; CT: C. trachomatis; NA: niet aanbevolen; NAAT: nucleic acid amplification test; *: NAAT indien cultuur niet mogelijk; **: niet gevalideerd