

Critically Appraised Topic: Efficiënte, kwalitatieve en snelle faecesdiagnostiek: zijn moleculaire panels de oplossing?

**Mathieu Cauchie
Supervisor: Dr. J. Frans
Imeldaziekenhuis - Bonheiden
22/05/2014**

Inleiding: PICO

Patient/Population: een patiënt met acute of chronische gastro-enteritis

Intervention: faecesdiagnostiek met behulp van moleculaire panels

Comparison: faecesdiagnostiek met behulp van de conventionele technieken

Outcome: een snel, kwalitatief en kosten-efficiënt resultaat

Inleiding: gastro-enteritis

- Definitie: ongevormde stoelgang, meer dan 3 maal per 24u
- Acuut → persisterend → chronisch
- Enkele cijfers:

211-375 miljoen episodes (per persoon: 1,4)

1,8 miljoen hospitalisaties (3100 sterftegevallen)

Jonge populatie: 5 miljoen sterftegevallen

USA

Wereldwijd

- Oorzaken:

Soort diarree	oorzaak
Osmotische diarree	Mg-, PO ₄ -, SO ₄ -inname, suikermalabsorptie
Steatorroe	Malabsorptie, maldigestie
Inflammatoire diarree	<i>Inflammatory bowel disease</i> (IBD)
	Infectieuze ziekte
	Ischemische colitis
	Radiotherapie colitis
	Neoplasie
Secretoire diarree	Laxativa (niet-osmotisch)
	<i>Inflammatory bowel disease</i> (IBD)
	Bacteriële toxines
	Neuro-endocriene tumoren
	Drugs en vergif
	Neoplasie
	Idiopathische secretoire diarree

Inleiding: infectieuze gastro-enteritis

- Staal afnemen?
 - overvloedige waterige diarree (hypovolemie)
 - bloederige diarree
 - > 6 ongevormde stoelgangepisodes per dag
 - ernstige abdominale pijn
 - temperatuur > 38,5 ° C
 - diarree bij ouderen, immuungecompromiteerden of gehospitaliseerde patiënten
- Behandeling?
 - Rehydratie
 - Antimicrobiële middelen

Inleiding: infectieuze gastro-enteritis

Pathoogeen	Ontwikkelde landen		Reizigersdiarree	Immuungecompromiteerden	
	kind	volwassen		acuut	chronisch
Campylobacter spp.	x	x	x	x	
Salmonella enterica	x	x	x	x	
Y. enterocolitica	x	x		x	
Shigella spp.	x	x	x	x	
Plesiomonas shigelloides	x	x		x	
EHEC ¹	x	x		x	
EPEC ²	x			x	
ETEC ³			x		
V. cholerae			x ⁴		
Norovirus	x	x	x	x	
Rotavirus	x	x		x	
Astrovirus	x	x		x	
Adenovirus 40/41	x				
Giardia lamblia	x	x	x	x	
E. histolytica			x		
Cryptosporidium spp.			x		x
Cyclospora cayetanensis			x		x
Cycloisospora belli					x
Microsporidia					x
Mycobacterium avium complex					x

The Sanford guide to antimicrobial therapy 2012-2013

Inleiding: diagnose gastro-enteritis

IDSA GUIDELINES

A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM)^a

Etologische agentia Diagnostische procedures

Clostridium difficile	Nucleïnezuur amplificatie techniek (NAT) Glutamate dehydrogenase (GDH) antigen met of zonder toxinedetectie gevolgd door cytotoxine of NAT bevestiging
Salmonella spp.	Routine stoelgangcultuur
Shigella spp.	
Campylobacter spp.	
EHEC (E coli O157 en andere STEC)	Cultuur voor E. coli O157:H7 Shiga-toxine immunoassay NAT voor stx1/stx2 genen
Yersinia spp.	Gespecialiseerde stoelgang culturen
Vibrio spp.	
Aeromonas spp.	
Plesiomonas spp.	
Edwardsiella tarda	
S.Aureus toxines	
E. coli	
Enterotoxigenic	
Enteroinvasive	
Enteropathogenic	
Enteraggregative	

E. histolytica	Ova en parasieten microscopie
Blastocystis hominis	
Dientamoeba fragilis	
Giardia lamblia	
E. histolytica	E. histolytica specifieke immunoassay
Giardia lamblia	Enzyme immunoassay
Cryptosporidium spp.	Directe fluorescentie immunoassay
Cryptosporidium,	Aangepaste zuurvaste kleuring uitgevoerd in geconcentreerd specimen
Cyclospora, Isospora	Aangepaste trichome kleuring uitgevoerd op geconcentreerd specimen
Microsporidia	Histologische examinatie met EM ¹ bevestiging
Calicivirus (Norovirus, Sapovirus)	NAT
Enteric Adenovirus	
Enterovirus/Parechovirus	
Rotavirus	
Rotavirus	Enzym immunoassay
Enteric Adenovirus	
Enteric Adenovirus	Virale cultuur
Enterovirus/Parechovirus	
Cytomegalovirus	Histopathologische examinatie CMV cultuur

Inleiding: diagnose gastro-enteritis

IDSA GUIDELINES

A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM)^a

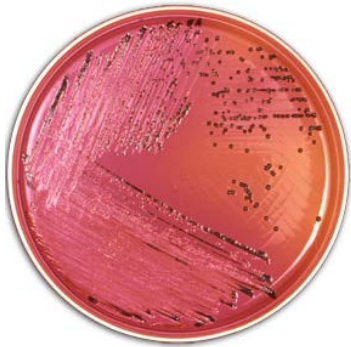
Etiologische agentia Diagnostische procedures

Clostridium difficile	Nucleïnezuur amplificatie techniek (NAT) Glutamate dehydrogenase (GDH) antigen met of zonder toxinedetectie gevolgd door cytotoxine of NAT bevestiging
Salmonella spp.	Routine stoelgangcultuur
Shigella spp.	
Campylobacter spp.	
EHEC (E coli O157 en andere STEC)	Cultuur voor E. coli O157:H7 Shiga-toxine immunoassay NAT voor stx1/stx2 genen
Yersinia spp.	Gespecialiseerde stoelgang culturen
Vibrio spp.	
Aeromonas spp.	
Plesiomonas spp.	
Edwardsiella tarda	
S.Aureus toxines	
E. coli	
Enterotoxigenic	
Enteroinvasive	
Enteropathogenic	
Enteraggregative	

E. histolytica	Ova en parasieten microscopie
Blastocystis hominis	
Dientamoeba fragilis	
Giardia lamblia	
E. histolytica	E. histolytica specifieke immunoassay
Giardia lamblia	Enzyme immunoassay
Cryptosporidium spp.	Directe fluorescentie immunoassay
Cryptosporidium, Cyclospora, Isospora	Aangepaste zuurvaste kleuring uitgevoerd in geconcentreerd specimen
Microsporidia	Aangepaste trichome kleuring uitgevoerd op geconcentreerd specimen Histologische examinatie met EM ¹ bevestiging
Calicivirus (Norovirus, Sapovirus)	NAT
Enteric Adenovirus	
Enterovirus/Parechovirus	
Rotavirus	
Rotavirus	Enzym immunoassay
Enteric Adenovirus	
Enteric Adenovirus	Virale cultuur
Enterovirus/Parechovirus	
Cytomegalovirus	Histopathologische examinatie CMV cultuur

Inleiding: diagnose gastro-enteritis

Bacteriën



Virussen



Parasieten



Inleiding: diagnose gastro-enteritis

1. Cultuur

- Goedkoop (reagentia)
- Hoge *turnaround time* (TAT)
- Lage sensitiviteit
- Arbeidsintensief

2. Antigentesten (ELISA en immuunchromatografische laterale flow)

- Snel
- Specifiek per pathogeen
- Bepaalde pathogenen: lage diagnostische performantie

3. Microscopisch onderzoek (rechtstreeks, kleuring na concentratie, DFA)

- Goedkoop (reagentia)
- Arbeidsintensief (*Triple-faeces-test*) en expertise

4. Moleculaire technieken

- Snel
- Sensitief en specifiek
- Geen onderscheid levende en dode micro-organismen
- *Multiplex PCR*

Inleiding: waarom moleculair panel?

1. Vraag van clinici
→ “steeds te laat”
 2. Verschillende technieken → 1 techniek: *lean management*
 3. Verhoogde opbrengst (sensitiever)
-
1. Goede bevindingen RespiFinder SMART 22 (PathoFinder, Maastricht, Nederland)
 - Clinici
 - Patiënten
 - Ouders



Inleiding: overzicht moleculaire panels

Panel		FilmArray GI Panel	xTAG GPP	Seeplex Diarrhea ACE	FTD Gastroenteritis	EntericBio GastroPanel I	ProGastro SSCS Assay	Gastroenteritis	GastroFinder SMART	BD MAX Enteric Panel
Producent		Biofire Diagnostics Inc.	Luminex	Seegene	Fast-track Diagnostics	Serosep Ltd	Gen-Probe prodesse	Diagenode	Pathofinder	BD
Gedetecteerde pathogenen	Campylobacter spp.	x	x ¹	x	x	x	x ³	x	x	x
	Salmonella enterica	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	C. difficile toxine A&B	x	x	x ²	x			x	x	
	Shigella spp.	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Y. enterocolitica	x	x	x	x				x	
	Aeromonas spp.	x		x					x	
	V. cholerae	x	x	x						
	E. coli O157 en STEC	x	x	x	x	x	x		x	x
	ETEC LT/ST	x	x							
	EAEC	x								
	EPEC	x								
	Plesiomonas shigelloides	x								
	Norovirus GI/GII	x	x	x	x			x	x ⁴	x
	Rotavirus A	x	x	x	x			x	x	x
	Adenovirus 40/41	x	x	x	x			x	x	
	Astrovirus	x		x	x			x	x	
	Sapovirus	x								
	Giardia lamblia	x	x		x			x	x	x
	Cryptosporidium spp.	x	x		x			x	x	x
	E. histolytica	x	x		x			x	x	x
	Cyclospora cayetanensis	x								
	D. fragilis							x	x	
Benodigde tijd tot resultaat		65 min	5u	9-10u	1,5u	3u	4u	4u	5u	4u
Prijs/staal ^p		± \$129	± €51	± €70	± €50	± €15	± €14	± €50	± €58	± €70
CE-IVD labeled		Neen	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Neen	Ja
FDA-approved		Ja	Ja	Neen	Neen	Neen	Ja	Neen	Neen	Neen

Inleiding: overzicht moleculaire panels

Panel		FilmArray GI Panel	xTAG GPP	Seeplex Diarrhea ACE	FTD Gastroenteritis	EntericBio GastroPanel I	ProGastro SSCS Assay	Gastroenteritis	GastroFinder SMART	BD MAX Enteric Panel
Producent		Biofire Diagnostics Inc.	Luminex	Seegene	Fast-track Diagnostics	Serosep Ltd	Gen-Probe prodesse	Diagenode	Pathofinder	BD
Gedetecteerde pathogenen	Campylobacter spp.	x	x ¹	x	x	x	x ³	x	x	x
	Salmonella enterica	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	C. difficile toxine A&B	x	x	x ²	x			x	x	
	Shigella spp.	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Y. enterocolitica	x	x	x	x				x	
	Aeromonas spp.	x		x					x	
	V. cholerae	x	x	x						
	E. coli O157 en STEC	x	x	x	x	x	x		x	x
	ETEC LT/ST	x	x							
	EAEC	x								
	EPEC	x								
	Plesiomonas shigelloides	x								
	Norovirus GI/GII	x	x	x	x			x	x ⁴	x
	Rotavirus A	x	x	x	x			x	x	x
	Adenovirus 40/41	x	x	x	x			x	x	
	Astrovirus	x		x	x			x	x	
	Sapovirus	x								
	Giardia lamblia	x	x		x			x	x	x
	Cryptosporidium spp.	x	x		x			x	x	x
	E. histolytica	x	x		x			x	x	x
	Cyclospora cayetanensis	x								
	D. fragilis							x	x	
Benodigde tijd tot resultaat		65 min	5u	9-10u	1,5u	3u	4u	4u	5u	4u
Prijs/staal ⁵		± \$129	± €51	± €70	± €50	± €15	± €14	± €50	± €58	± €70
CE-IVD labeled		Neen	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Neen	Ja
FDA-approved		Ja	Ja	Neen	Neen	Neen	Ja	Neen	Neen	Neen

Inleiding: overzicht moleculaire panels

Panel		FilmArray GI Panel	xTAG GPP	Seeplex Diarrhea ACE	FTD Gastroenteritis	EntericBio GastroPanel I	ProGastro SSCS Assay	Gastroenteritis	GastroFinder SMART	BD MAX Enteric Panel
Producent		Biofire Diagnostics Inc.	Luminex	Seegene	Fast-track Diagnostics	Serosep Ltd	Gen-Probe prodesse	Diagenode	Pathofinder	BD
Gedetecteerde pathogenen	Campylobacter spp.	x	x ¹	x	x	x	x ³	x	x	x
	Salmonella enterica	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	C. difficile toxine A&B	x	x	x ²	x			x	x	
	Shigella spp.	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Y. enterocolitica	x	x	x	x				x	
	Aeromonas spp.	x		x					x	
	V. cholerae	x	x	x						
	E. coli O157 en STEC	x	x	x	x	x	x		x	x
	ETEC LT/ST	x	x							
	EAEC	x								
	EPEC	x								
	Plesiomonas shigelloides	x								
	Norovirus GI/GII	x	x	x	x			x	x ⁴	x
	Rotavirus A	x	x	x	x			x	x	x
	Adenovirus 40/41	x	x	x	x			x	x	
	Astrovirus	x		x	x			x	x	
	Sapovirus	x								
	Giardia lamblia	x	x		x			x	x	x
	Cryptosporidium spp.	x	x		x			x	x	x
	E. histolytica	x	x		x			x	x	x
	Cyclospora cayetanensis	x								
	D. fragilis							x	x	
Benodigde tijd tot resultaat		65 min	5u	9-10u	1,5u	3u	4u	4u	5u	4u
Prijs/staal ⁵		± \$129	± €51	± €70	± €50	± €15	± €14	± €50	± €58	± €70
CE-IVD labeled		Neen	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Neen	Ja
FDA-approved		Ja	Ja	Neen	Neen	Neen	Ja	Neen	Neen	Neen

Inleiding: overzicht moleculaire panels

Panel		FilmArray GI Panel	xTAG GPP	Seeplex Diarrhea ACE	FTD Gastroenteritis	EntericBio GastroPanel I	ProGastro SSCS Assay	Gastroenteritis	GastroFinder SMART	BD MAX Enteric Panel
Producent		Biofire Diagnostics Inc.	Luminex	Seegene	Fast-track Diagnostics	Serosep Ltd	Gen-Probe prodesse	Diagenode	PathoFinder	BD
Gedetecteerde pathogenen	Campylobacter spp.	x	x ¹	x	x	x	x ³	x	x	x
	Salmonella enterica	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	C. difficile toxine A&B	x	x	x ²	x			x	x	
	Shigella spp.	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Y. enterocolitica	x	x	x	x				x	
	Aeromonas spp.	x		x					x	
	V. cholerae	x	x	x						
	E. coli O157 en STEC	x	x	x	x	x	x		x	x
	ETEC LT/ST	x	x							
	EAEC	x								
	EPEC	x								
	Plesiomonas shigelloides	x								
	Norovirus GI/GII	x	x	x	x			x	x ⁴	x
	Rotavirus A	x	x	x	x			x	x	x
	Adenovirus 40/41	x	x	x	x			x	x	
	Astrovirus	x		x	x			x	x	
	Sapovirus	x								
	Giardia lamblia	x	x		x			x	x	x
	Cryptosporidium spp.	x	x		x			x	x	x
	E. histolytica	x	x		x			x	x	x
	Cyclospora cayetanensis	x								
	D. fragilis							x	x	
Benodigde tijd tot resultaat		65 min	5u	9-10u	1,5u	3u	4u	4u	5u	4u
Prijs/staal ⁵		± \$129	± €51	± €70	± €50	± €15	± €14	± €50	± €58	± €70
CE-IVD labeled		Neen	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Neen	Ja
FDA-approved		Ja	Ja	Neen	Neen	Neen	Ja	Neen	Neen	Neen



Inhoudstafel



Price, C.P., Evidence-based laboratory medicine: supporting decision-making. *Clin Chem*, 2000. **46**(8 Pt 1): p. 1041-50.

Analytische performantie: pre-analyse

1. Biologische variatie

1. Staalafname: zo snel mogelijk na begin symptomen
2. Intermittente uitscheiding van cysten → TFT (niet bij antigen testen)
3. Bacteriële cultuur: 1 staal (verschil met praktijk!)
4. Moleculaire panels: ?

2. Interferentie

1. Uitscheiding norovirus, C. difficile, Campylobacter spp., Salmonella enterica (tot 1 jaar!)

3. Staalstabiliteit

1. CDC + IDSA: bacteriële cultuur: transport 2u (of 24u met Cary-blair)
2. WHO: bacteriële cultuur → 1-2 dagen (2-8° C)
3. CDC + IDSA: norovirus NAT: 2-3 weken (2-8° C), 'langer' (-15° C)
4. FDA: 3 maand (-80° C)

Analytische performantie: analytisch

U.S. Department of Health & Human Services

 **U.S. Food and Drug Administration**
Protecting and Promoting *Your* Health

A to Z Index | Follow FDA | FDA Voice Blog

SEARCH

Home | Food | Drugs | **Medical Devices** | Radiation-Emitting Products | Vaccines, Blood & Biologics | Animal & Veterinary | Cosmetics | Tobacco Products

Medical Devices

Home | Medical Devices | Products and Medical Procedures | In Vitro Diagnostics

Products and Medical Procedures

- In Vitro Diagnostics
- Proposed Pilot Triage Program
- Drugs of Abuse Tests**
- Blood Glucose Monitoring Devices
- Home Use Tests
- Lab Tests

Nucleic Acid Based Tests

This is a list of nucleic acid-based tests that have been cleared or approved by the Center for Devices and Radiological Health. These tests analyze variations in the sequence, structure, or expression of deoxyribonucleic acid (DNA) and ribonucleic acid (RNA) in order to diagnose disease or medical conditions, infection with an identifiable pathogen, and determine genetic carrier status.

This list excludes nucleic acid-based companion diagnostic tests. Those tests are listed at [In Vitro Companion Diagnostic Devices](#).

- Human Genetic Tests
- Microbial Tests

<http://www.fda.gov/medicaldevices/productsandmedicalprocedures/invitrodiagnostics/ucm330711.htm>

Analytische performantie: analytisch

<i>Mycobacterium species</i>	Accuprobe Mycobacterium gordonae culture identification Test	Gen-Probe, Inc.	K896492
	Rapid Diagnostic System for Mycobacterium gordonae	Gen-Probe, Inc.	K890089
	Rapid Diagnostic System for Mycobacteria	Gen-Probe, Inc.	K864597
	Rapid Identification Test for Mycobacterium avium	Gen-Probe, Inc.	K862613
	Gen-Probe Mycobacterium Rapid Confirmation System	Gen-Probe, Inc.	K860782
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Illumigene Mycoplasma DNA Amplification Assay	Meridian Bioscience, Inc.	K123423
Multiplex Panel	ProGastro SSCS Assay	Gen-Probe Prodesse, Inc.	K123274
	xTAG Gastrointestinal Pathogen Panel (GPP)	Luminex Molecular Diagnostics, Inc.	K121894, K121454
	BD Max MRSA Assay	BD Diagnostics (GeneOhm Sciences Canada, Inc.)	K120138
	Staphylococcus QuickFISH BC	AdvanDx, Inc.	K113371
	MRSA/SA ELITE MGB	EliTechGroup Epoch Biosciences.	K112937
	Verigene Staphylococcus Blood Culture (BC-S) Nucleic Acid Test	Nanosphere, Inc.	K112424
	NucliSENS EasyQ MRSA Assay	bioMerieux, Inc.	K102740



Analytische performantie: precisie

A. xTAG GPP

- 1) Herhaalbaarheid: *within-run* variatie; n = 20
 - Sterk positieve stalen: 100%
 - Zwak positieve stalen: 100% (uitgezonderd *Cryptosporidium* spp. en norovirus GII: 95%)
- 2) Reproduceerbaarheid: *between-run* variatie; n = 90
 - Sterk positieve stalen: 97,8% - 100%
 - Zwak positieve stalen: 90% - 100% (uitgezonderd *Cryptosporidium* spp.: 57,8%)
 - 'Hoog negatieve' stalen: 57,8% - 100% (stochastisch karakter)
- 3) Co-infecties: 94-100% (uitgezonderd norovirus GII: 81,1%)

Cryptosporidium
spp. en norovirus!

B. Progastro SSCS Assay

- 1) Intra-laboratorium reproduceerbaarheid: n = 72
 - Matig positieve stalen en zwak positieve stalen: 100%
 - 'Hoog negatieve' stalen: 100% (uitgezonderd *Campylobacter jejuni*: 98,6%)
- 2) Inter-laboratorium reproduceerbaarheid: n = 30
 - Matig positieve stalen, zwak positieve stalen, 'hoog negatieve' stalen: 100%



Analytische performantie: LoD



10 – 100 maal lager

Pathogeen	Staal of stam	LoD	
		xTAG GPP (Luminex)	Progestro SSCS (Prodesse)
Norovirus	Klinisch staal (GI)	6.56×10^5 kopieën/mL	
	Klinisch staal (GII)	1.15×10^6 kopieën/mL	
Rotavirus A	Klinisch staal	6.84×10^4 kopieën/mL	
Campylobacter spp.	Campylobacter jejuni	5.86×10^4 CFU/mL	1.36×10^3 CFU/mL
	Campylobacter coli		1.99×10^3 CFU/mL
Salmonella enterica	Salmonella enterica serotype Typhimurium	2.34×10^5 CFU/mL	2.25×10^4 CFU/mL
	Salmonella enterica serotype Typhi		1.63×10^3 CFU/mL
	Salmonella enterica serotype Enteritidis		2.47×10^4 CFU/mL
Shigella spp.	Shigella sonnei	3.67×10^3 CFU/mL	1.46×10^3 CFU/mL
	Shigella boydii		6.60×10^2 CFU/mL
	Shigella dysenteriae		1.03×10^3 CFU/mL
	Shigella flexneri		3.11×10^3 CFU/mL
C. difficile	Clostridium difficile, BAA-1805	9.38×10^5 CFU/mL	
	Clostridium difficile, 43255	3.75×10^6 CFU/mL	
E. coli O157	E. coli O157 (EDL933; O157:H7; STEC stx 1/2	2.34×10^5 CFU/mL	1.66×10^4 CFU/mL
STEC	E. coli O157 (EDL933; O157:H7; STEC stx 1/2	2.34×10^5 CFU/mL	1.66×10^4 CFU/mL
	E. coli O26		9.27×10^3 CFU/mL
ETEC	E. coli, 35401 (O78:H11; ST+LT+)	2.34×10^5 CFU/mL	
Giardia lamblia	Giardia lamblia, PRA-243	2.20×10^2 cellen/mL	
Cryptosporidium spp.	Klinisch staal	3.51×10^4 kopieën/mL	



Analytische performantie: accuraatheid

Staal	Correct resultaat	Ct	GastroFinder	xTAG GPP	G-DiaNota
GastroV12-01	Rotavirus	28.9	Negatief	Rotavirus	
GastroV12-02	Sapovirus	24.4	Niet uitgevoerd	Niet uitgevoerd	
GastroV12-03	Norovirus GII	33.1	Norovirus	Negatief	Norovirus (C _T : 29,10)
GastroV12-04	Adenovirus	34.5	Negatief	Negatief	
GastroV12-05	Negatief		Negatief	Negatief	
GastroV12-06	Adenovirus	29.2	Adenovirus	Adenovirus	
GastroV12-07	Norovirus GI	30.6	Negatief	Negatief	Norovirus (C _T : 29,34)
GastroV12-08	Rotavirus	32.5	Negatief	Rotavirus	
GastroV12-09	Astrovirus	19.1	Astrovirus	Niet uitgevoerd	

Staal	Correct resultaat	Ct	GastroFinder	xTAG GPP
GastroB12-01	Salmonella enteritidis	32.7	Salmonella spp.	Salmonella spp.
GastroB12-02	Campylobacter lari	27.5	Campylobacter spp.	Campylobacter spp.
GastroB12-03	Campylobacter jejuni	31.8	Campylobacter jejuni	Campylobacter spp.
GastroB12-04	Yersinia enterocolitica 1a ¹	27.8	Negatief	Y. enterocolitica
GastroB12-05	Salmonella enteritidis	29.5	Salmonella spp.	Salmonella spp.
GastroB12-06	Negatief		Negatief	Niet uitgevoerd
GastroB12-07	Campylobacter jejuni	29.6	Campylobacter jejuni.	Campylobacter spp.
GastroB12-08	Campylobacter ureolyticus	25.0	Negatief	Negatief
GastroB12-09	Campylobacter jejuni	27.7	Campylobacter jejuni.	Campylobacter spp.
GastroB12-10	Shigella flexneri	27.5	Shigella spp.	Shigella spp.

Analytische performantie: accuraatheid

Cryptosporidium
spp. en rotavirus!

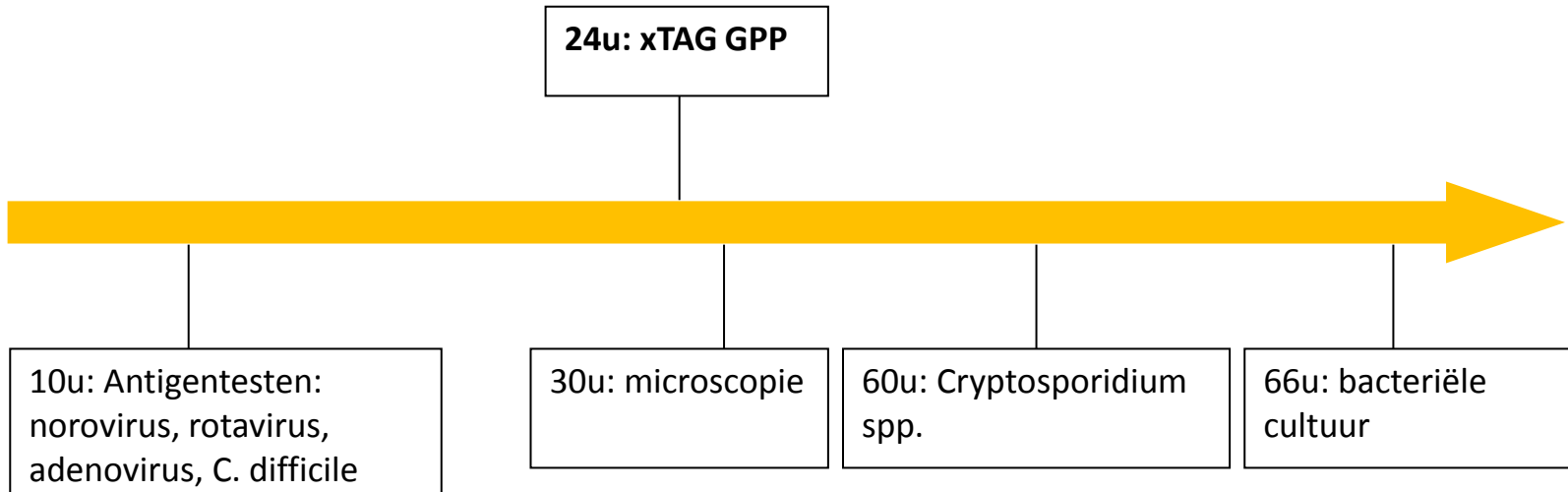
Cryptosporidium
spp. en norovirus!

Staal	Correct resultaat	Ct	GastroFinder	xTAG GPP	G-DiaPara
GastroP12-01	Entamoeba histolytica	30.4	Entamoeba histolytica	Entamoeba histolytica	
GastroP12-02	D. fragilis + C. parvum (10^{-1})	36.9 en 35.2	Dientamoeba fragilis	Negatief	C. parvum (Ct: 34,99)
GastroP12-03	Giardia lamblia	36.2	Giardia lamblia	Giardia lamblia	
GastroP12-04	Giardia lamblia	32.5	Giardia lamblia	Giardia lamblia	
GastroP12-05	Entamoeba dispar	36.5	Dientamoeba fragilis	Negatief	
GastroP12-06	Cryptosporidium parvum	37.5	Negatief	Negatief	C. parvum (Ct: 36,50)
GastroP12-07	D. fragilis + C. parvum (10^{-3})	?	Negatief	Negatief	
GastroP12-08	Cryptosporidium parvum	35.1	Cryptosporidium spp.	Negatief	
GastroP12-09	Negatief		Negatief	Niet uitgevoerd	
GastroP12-10	Entamoeba histolytica	32.6	Entamoeba histolytica	Entamoeba histolytica	

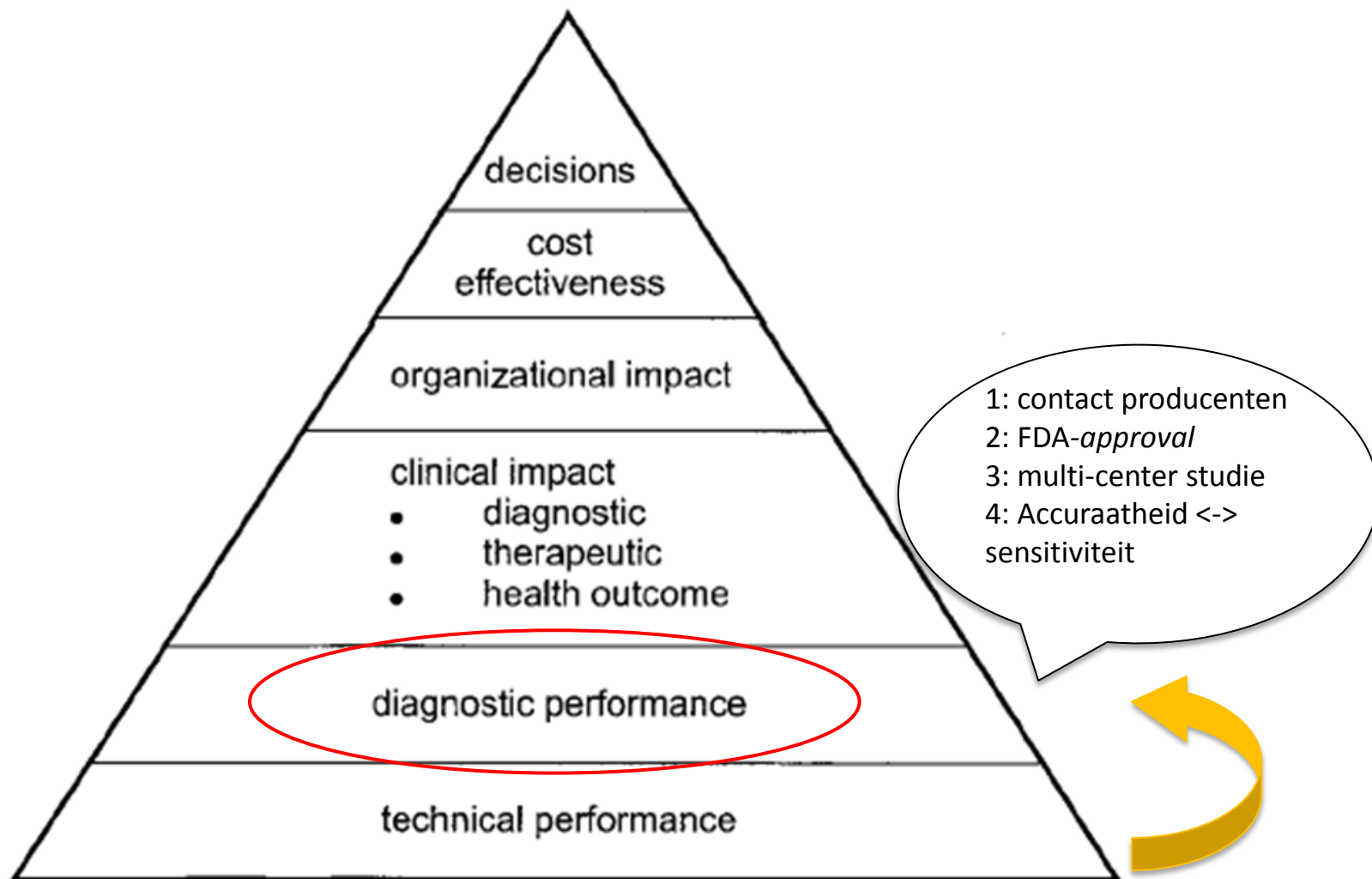
- Resultaten niet goed (18/30 GastroFinder SMART 17 FAST en 20/27 xTAG GPP)
- Hoofdzakelijk voor virale en parasitaire darmpathogenen
- MAAR: hoge Ct-waarden, geen uitgebreid rapport QCMD, geen richtlijnen,...

Analytische performantie: *turnaround-time*

- A. Volledig geautomatiseerd (FilmArray): theoretisch 2u
 - B. Niet geautomatiseerd → in *batch*
 - 1. O'leary *et al.*: EntericBio Panel I = 24-32u ↔ 96u
 - 2. Kahlau *et al.*: xTAG GPP = 24u ↔ 72u
 - 3. Halligan *et al.*: xTAG GPP
- } Bacteriële cultuur



Inhoudstafel



College of American Pathologists (CAP)



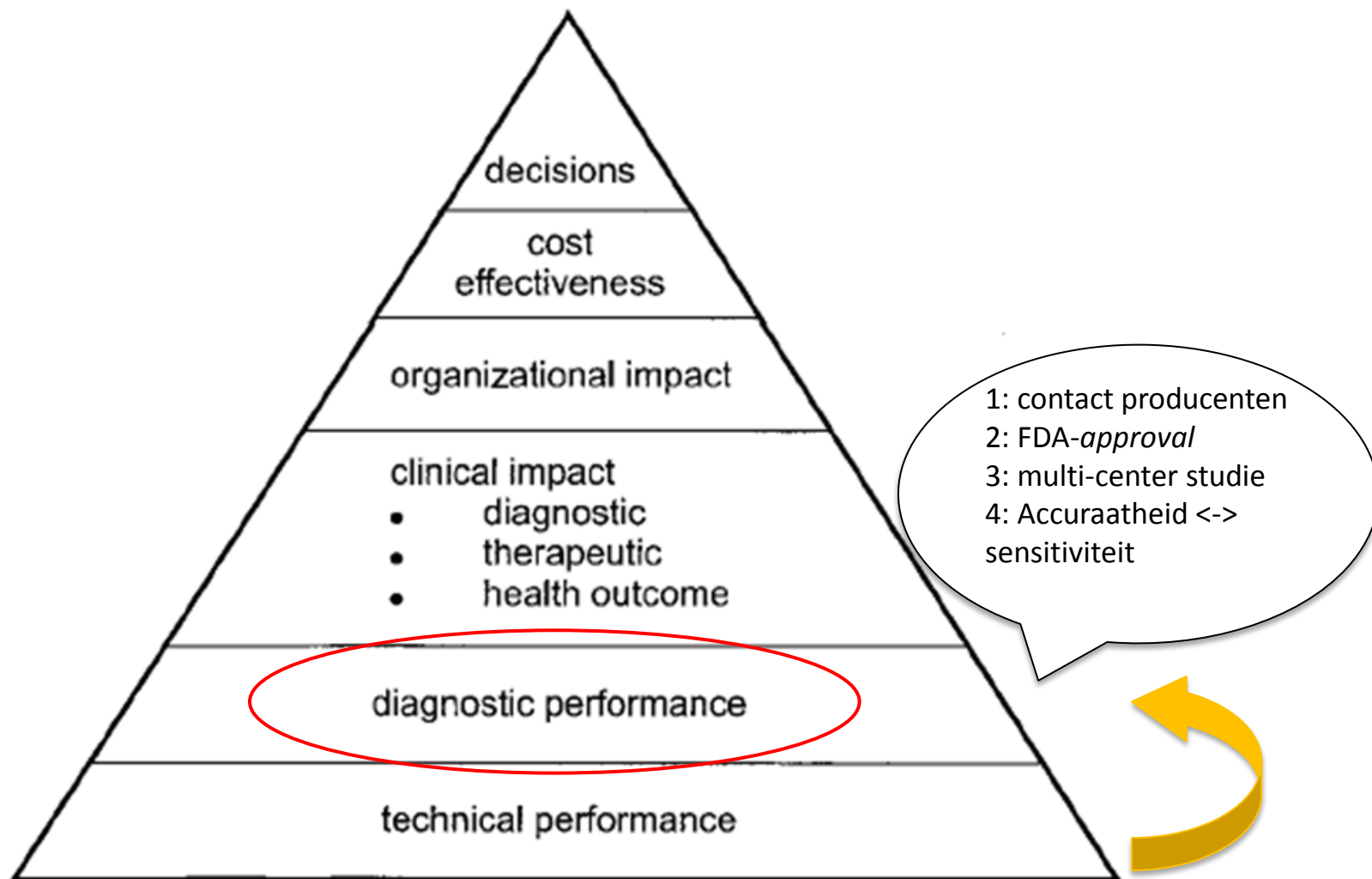
Gastrointestinal Panel for Molecular Multiplex Testing GIP

Analyte	Program Code	Challenges/Shipment
	GIP	
<i>Campylobacter</i>	■	3
<i>Clostridium difficile</i> , toxin A/B	■	3
<i>Cryptosporidium</i>	■	3
Enterotoxigenic <i>E. coli</i> (ETEC) LT/ST	■	3
<i>Escherichia coli</i> O157	■	3
<i>Giardia</i>	■	3
Norovirus GI/GII	■	3
Rotavirus A	■	3
<i>Salmonella</i>	■	3
Shiga-like toxin producing <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i>	■	3
<i>Shigella</i>	■	3

Program Information

- Three 1.0-mL simulated stool specimens
- For laboratories using molecular multiplex panels
- Not available to international customers due to United States export law restrictions
- Two shipments per year

Inhoudstafel





Diagnostische performantie: literatuur

Panel	n	sensitiviteit	specificiteit	PPW	NPW	Discordanties	Referentie
xTAG GPP	302	94,5%	99%	87% ^A	99%	cultuur, conventionele PCR, real-time PCR	[8]
EntericBio Panel II ^E	773	98,4%	98,7%	93,9%	99,7%	cultuur, conventionele PCR, real-time PCR	[61]
	528	92,7%	100%	100%	98,7%	cultuur, conventionele PCR, real-time PCR, sequencing met BLAST analyse	[64]
EntericBio GastroPanel I ^E	528	100%	97,8%	88,1%	100%	cultuur, conventionele PCR, real-time PCR, sequencing met BLAST analyse	[64]
Seeplex Diarrhea	245	87,8% ^B	99%	89%	98,8%	cultuur, conventionele PCR, real-time PCR	[65]
	197 ^C	99,3%	99,3%	96%	96,8%	EM, real-time PCR	[66]
Progestro SSCS Assay ^E	1244	98,1%	98,6%	86% ^D	99,7%	cultuur, conventionele PCR, real-time PCR, sequencing met BLAST analyse	[6]

1. Bacteriën

A. Campylobacter spp.:

Panel	sensitiviteit	specificiteit	sensitiviteit cultuur	referentie
EntericBio GastroPanel I	100%	99,20%	80%	Koziel <i>et al.</i>
Seeplex Diarrhea ACE panel	95%	100%	25%	Onori <i>et al.</i>
Progestro SSCS Assay	100%	99,40%	77%	Buchan <i>et al.</i>
xTAG GPP	90%	99%	100%	Navidad <i>et al.</i>

Diagnostische performantie: literatuur

B. Salmonella enterica:

Panel	sensitiviteit	specificiteit	sensitiviteit cultuur	referentie
Seeplex Diarrhea ACE panel	60%	100%	100% ^B	Onori <i>et al.</i>
FTD GastroEnteritis	87%	100%	100% ^{B*}	McAuliffe <i>et al.</i>
Progastro SSCS Assay	100%	100%	66,6% ^A	Buchan <i>et al.</i>
xTAG GPP	92%	100%	100% ^B	Navidad <i>et al.</i>
EntericBio GastroPanel I	100%	100%	100% ^A	Koziel <i>et al.</i>

A: zonder aanrijking

B: met aanrijking

C. Shigella spp.:

Panel	sensitiviteit	specificiteit	sensitiviteit cultuur	referentie
EntericBio GastroPanel I	100%	100%	66,70%	Koziel <i>et al.</i>
Progastro SSCS Assay	100%	100%	71,40%	Buchan <i>et al.</i>
xTAG GPP	93%	100%	100%	Navidad <i>et al.</i>

C. Y. enterocolitica:

Panel	sensitiviteit	specificiteit	sensitiviteit cultuur	referentie
xTAG GPP	100%	100%	100%	Navidad <i>et al.</i>



Diagnostische performantie: literatuur

E. E. coli O157 en STEC:

Panel	sensitiviteit	specificiteit	sensitiviteit cultuur/EIA	referentie
EntericBio GastroPanel I	100%	98,80%	45,70%	Koziel <i>et al.</i>
Progastro SSCS Assay	100%	100%	52,90%	Buchan <i>et al.</i>
xTAG GPP	97%	100%	100%	Navidad <i>et al.</i>

E. C. difficile toxine A&B:

Panel	sensitiviteit	specificiteit	sensitiviteit cultuur/EIA/Xpert	referentie
xTAG GPP	91%	100%	100%	Navidad <i>et al.</i>
Seeplex Diarrhea ACE panel	40%	100%	88%	Onori <i>et al.</i>

Diagnostische performantie: literatuur

2. Virussen

A. Norovirus:

Panel	sensitiviteit	specificiteit	sensitiviteit referentie	referentie
xTAG GPP	100%	100%	real-time PCR: 100%	Navidad <i>et al.</i>
Seeplex Diarrhea ACE	100%	99%	EIA: 30%	Onori <i>et al.</i>

A. Rotavirus:

Panel	sensitiviteit	specificiteit	sensitiviteit referentie	referentie
xTAG GPP	100%	100%	real-time PCR: 100%	Navidad <i>et al.</i>
Seeplex Diarrhea ACE	96%	96%	Rotastrap (Coris): 87%	Onori <i>et al.</i>

A. Adenovirus 40/41:

Panel	sensitiviteit	specificiteit	sensitiviteit referentie	referentie
xTAG GPP	100%	100%	real-time PCR: 100%	Navidad <i>et al.</i>
Seeplex Diarrhea ACE	92%	99%	Adenostrip (Coris): 58%	Onori <i>et al.</i>

Diagnostische performantie: literatuur

3. Parasieten

A. Giardia lamblia:

Panel	sensitiviteit	specificiteit	sensitiviteit referentie	referentie
xTAG GPP	95%	100%	EIA/microscopie: 100%	Navidad <i>et al.</i>

A. Entamoeba histolytica:

Panel	sensitiviteit	specificiteit	sensitiviteit referentie	referentie
xTAG GPP	100%	89%	real-time PCR: 100%	Navidad <i>et al.</i>

C. Cryptosporidium spp.:

Panel	sensitiviteit	specificiteit	sensitiviteit referentie	referentie
xTAG GPP	100%	100%	EIA/microscopie: 100%	Navidad <i>et al.</i>

Diagnostische performantie: klinische studie FDA

A. xTAG GPP: n = 1407 → 578 (215 + 363) positief

Pathogeen	xTAG GPP positief en referentie positief	xTAG GPP positief en referentie negatief	sequencing
Campylobacter spp.	3	22	6
C. difficile toxine A&B	107	114	49
Cryptosporidium spp.	12	57	8
E. coli O157	2	11	4
ETEC LT/ST	2	5	5
G. lamblia	4	37 ¹	? ¹
Norovirus ²	74	99	0
Rotavirus ²	2	3	0
Salmonella spp.	10	19	2
STEC stx1/stx2	1	15	1
Shigella spp.	2	18	2
<u>TOTAAL</u>	<u>215</u>	<u>363</u>	<u>77</u>



21%

Diagnostische performantie: klinische studie FDA

A. xTAG GPP: n = 1407 → 578 (215 + 363) positief

Pathogeen	xTAG GPP positief en referentie positief	xTAG GPP positief en referentie negatief	sequencing
Campylobacter spp.	3	22	6
C. difficile toxine A&B	107	114	49
Cryptosporidium spp.	12	57	8
E. coli O157	2	11	4
ETEC LT/ST	2	5	5
G. lamblia	4	37 ¹	? ¹
Norovirus ²	74	99	0
Rotavirus ²	2	3	0
Salmonella spp.	10	19	2
STEC stx1/stx2	1	15	1
Shigella spp.	2	18	2
<u>TOTAAL</u>	<u>215</u>	<u>363</u>	<u>77</u>

Due to the open system design of the platform there is a potential for contamination, the Intended Use of this device states that all positive results are presumptive and need to be confirmed by another FDA-cleared or approved assay or acceptable reference method. The benefit of this test lies in its ability to rule out infection of a patient with the 11 pathogens on the panel. The following mitigations were instituted for the xTAG GPP:

Diagnostische performantie: klinische studie FDA

B. Progastro SSCS Assay: n = 1187 → 102 (64 + 38) positief

Pathogeen	Progastro SSCS positief en referentie positief	Progastro SSCS positief en referentie negatief	sequencing
Campylobacter spp.	20	13	6
Salmonella spp.	20	10	10
Shigella spp.	15	6	6
STEc stx1/stx2	9	9	9
<u>TOTAAL</u>	<u>64</u>	<u>38</u>	<u>31</u>

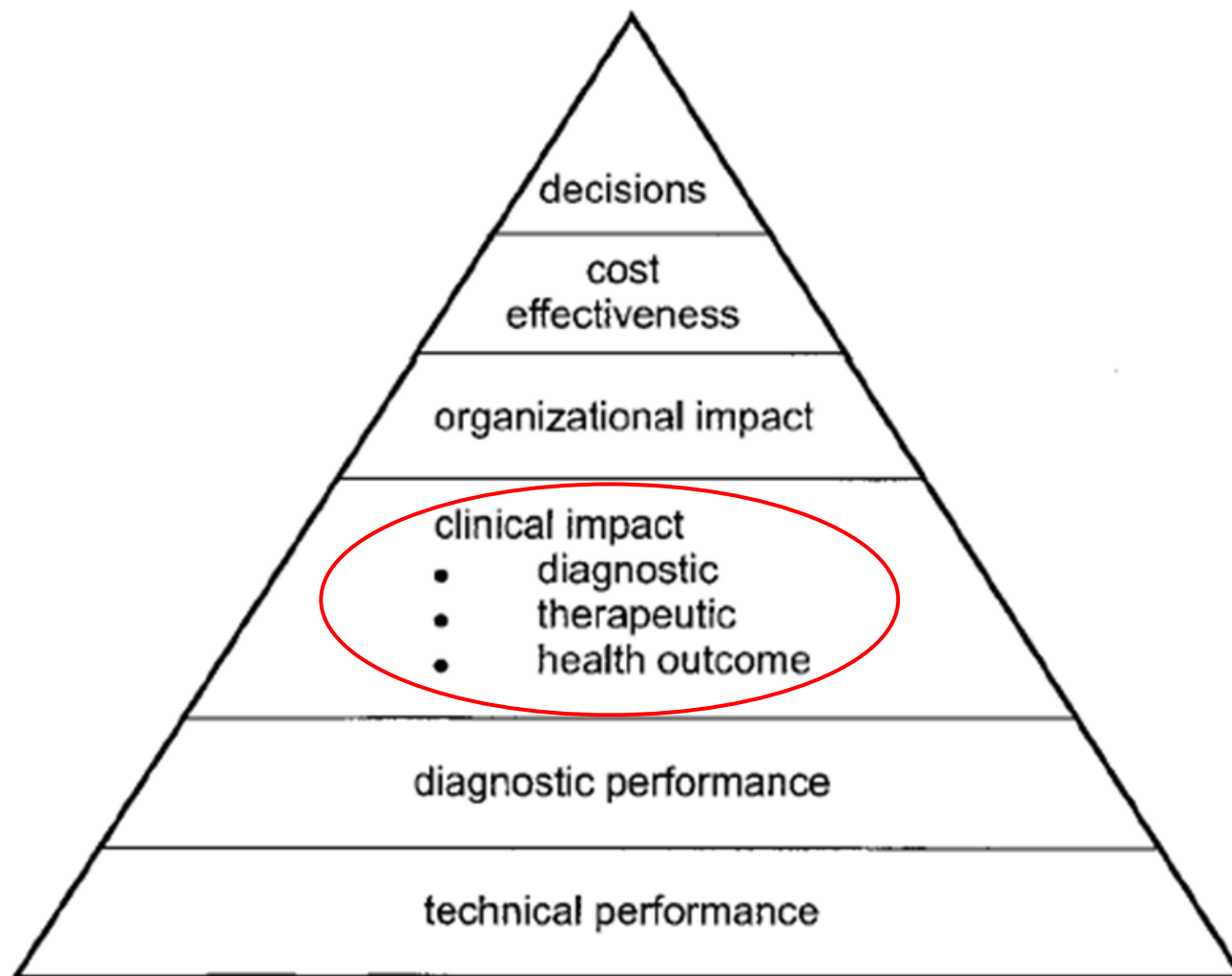
The Prodesse® ProGastro SSCS Assay is a multiplex real time PCR *in vitro* diagnostic test for the qualitative detection and differentiation of *Salmonella*, *Shigella*, and *Campylobacter* (*C. jejuni* and *C. coli* only, undifferentiated) nucleic acids and Shiga Toxin 1 (*stx1*) and Shiga Toxin 2 (*stx2*) genes. Shiga toxin producing *E. coli* (STEC) typically harbor one or both genes that encode for Shiga Toxins 1 and 2. Nucleic acids are isolated and purified from preserved stool specimens obtained from symptomatic patients exhibiting signs and symptoms of gastroenteritis. This test is intended for use, in conjunction with clinical presentation and epidemiological risk factors, as an aid in the differential diagnosis of *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter jejuni*/*Campylobacter coli*, and STEC infections in humans.



Diagnostische performantie: Meldaziekenhuis

Staal	routinediagnostiek	GastroFinder	xTAG GPP	G-Dia Para/Nota
1	Adenovirus 40/41	Adenovirus 40/41	Adenovirus 40/41	
2	Norovirus GII (Ct: 22)	Negatief	Adenovirus 40/41	Norovirus (Ct: 32)
3	Norovirus GII (Ct: 13)	Norovirus	Norovirus	
4	Aeromonas caviae	D. fragilis	Niet uitgevoerd	
5	Aeromonas caviae	Negatief	Niet uitgevoerd	
6	C. difficile (toxine A&B)	C. difficile + G. lamblia	C. difficile + G. lamblia	G. lamblia (Ct: 32)
7	C. difficile (toxine A&B)	C. difficile + G. lamblia	Niet uitgevoerd	G. lamblia (Ct: 30)
8	C. difficile (toxine A&B)	C. difficile	Niet uitgevoerd	
9	Campylobacter coli	Negatief	Campylobacter spp.	
10	C. jejuni + C. coli	Campylobacter spp. en C. jejuni	Campylobacter spp.	
11	C. helveticus	Campylobacter spp.	Negatief	
12	Salmonella spp. (naa) ^{1, 2}	Negatief	Negatief	
13	Salmonella spp.	Salmonella spp. + G. lamblia	Salmonella spp. + G. lamblia	G. lamblia (Ct: 31)
14	Shigella sonnei	Shigella spp.	Shigella spp. + ETEC	
15	Y. enterocolitica biotype 4	Y. enterocolitica	Niet uitgevoerd	
16	Y. enterocolitica biotype 1a	Salmonella spp.	Negatief	
17	Y. enterocolitica biotype 4	Y. enterocolitica + Salmonella spp. + D. fragilis	Negatief	
18	G. lamblia	G. lamblia + D. fragilis	G. lamblia	
19	G. lamblia	G. lamblia	Niet uitgevoerd	
20	G. lamblia	G. lamblia	G. lamblia	
21	Cryptosporidium spp.	Cryptosporidium spp. + Salmonella spp.	Cryptosporidium spp.	

Inhoudstafel



Klinische impact: diagnostisch

- **Detectie van bijkomende pathogenen (niet 'aangevraagd')**
→ Kahlau *et al.* en Wessels *et al.*: 65% en 72% van de gedetecteerde pathogenen: niet aangevraagd!
- **Detectie pathogenen (niet mogelijk met conventionele technieken)**
→ ETEC, EPEC, EAEC, astrovirus
- **Co-infecties: voornamelijk C. difficile toxine A&B en norovirus**
→ overbehandeling C. difficile? (Claas *et al.* J. Microbiol. Biotechnol, 2013)
- **Sapovirus: 9,2% acute gastro-enteritis in de gemeenschap** (Tam *et al.* *Clinical Infectious Diseases*, 2012)
→ Enkel FilmArray Panel (binnenkort ook GastroFinder SMART 17 FAST)
- **Microscopie nog steeds noodzakelijk in bepaalde gevallen**
→ Ook bij antigentesten!
- **Andere onderzoeken vermijden?**
→ 62% echografie, 20% RX, 16% CT, 9% coloscopie

Klinische impact: therapeutische impact en outcome

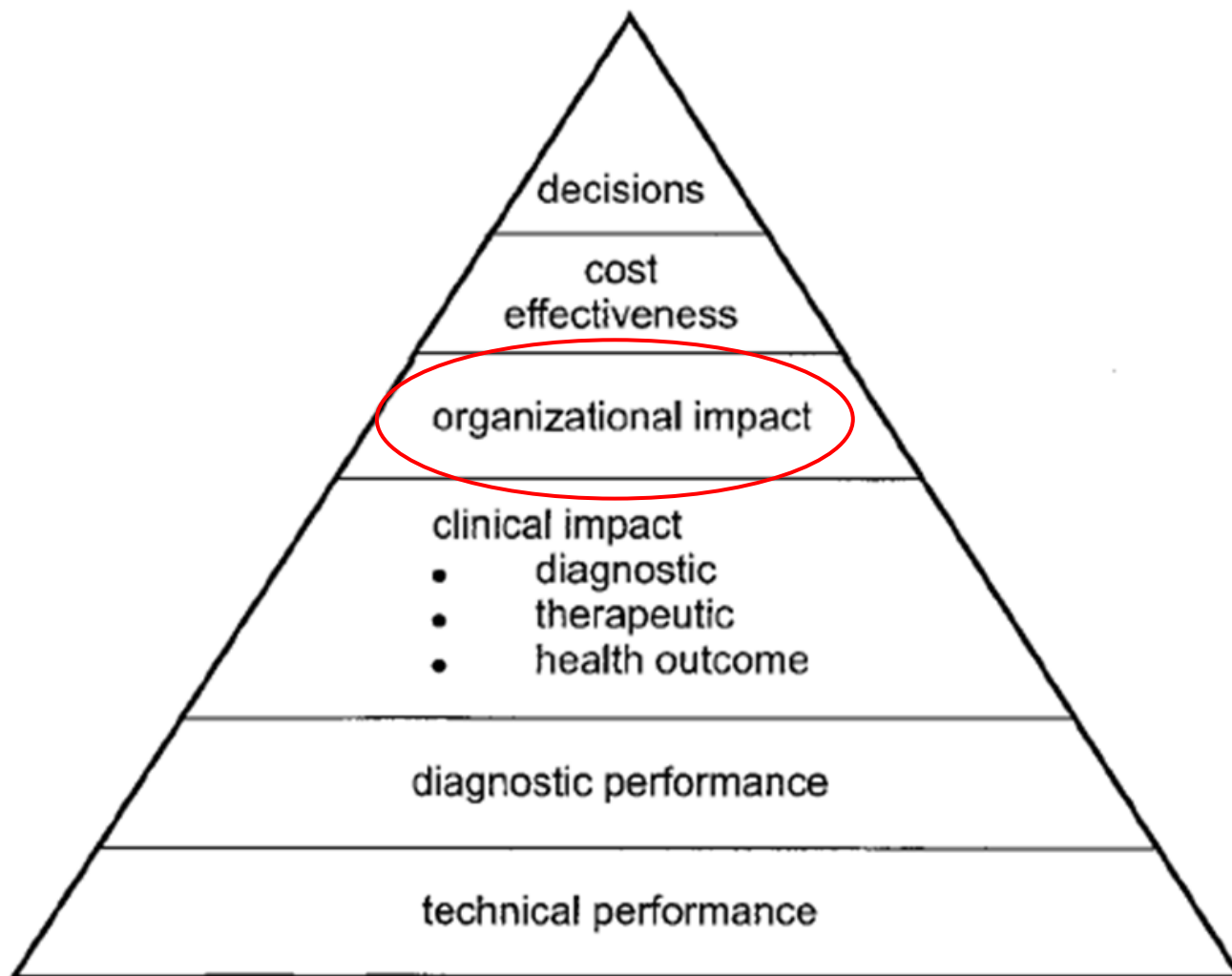
- Lagere TAT en verhoogde sensitiviteit

- Minder antibioticagebruik?
- Sneller behandeling starten?
 - Bloederige diarree
 - Hoge koorts
 - Extra-intestinale infecties
 - Hospitalisatie
 - > 8 stoelgangepisodes per dag
 - Symptomen > 1 week
- Betere *outcome* bij E. coli O157 en STEC?
- *Outbreak* sneller aanpakken?

- E. coli O157 en STEC

- Meestal enkel getest bij bloederige stalen MAAR STEC-infectie: slechts 20-50% bloederig!

Inhoudstafel



Organisatorische impact:

- **Minder hospitalisatienood?**

→ Zoals bij RespiFinder

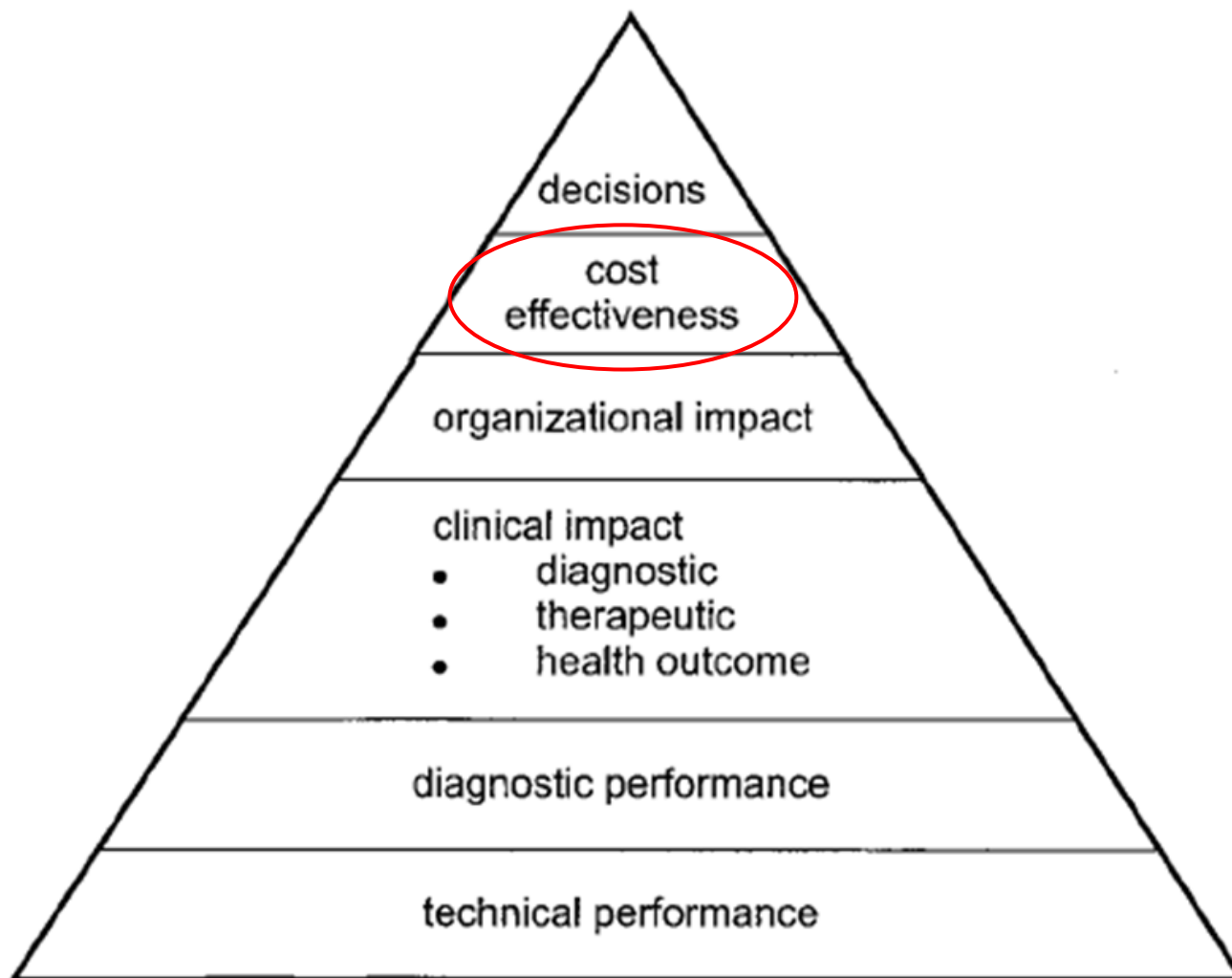
- ***Hands-on time:***

Diagnostische procedure	minuten
Bacteriële kweek	10,6
Alle pathogenen met conventionele methoden	81,1
xTAG GPP	15
Gastrofinder SMART 17 FAST	20

- **Ieder positief resultaat met xTAG GPP: bevestigen!**

Due to the open system design of the platform there is a potential for contamination, the ~~Intended Use~~ of this device states that all positive results are presumptive and need to be confirmed by another FDA-cleared or approved assay or acceptable reference method. The benefit of this test lies in its ability to rule out infection of a patient with the 11 pathogens on the panel. The following mitigations were instituted for the xTAG GPP:

Inhoudstafel



Financiële impact: RIZIV nomenclatuur

Nomenclatuurnummer en beschrijving	B-waarde	€	diagnoseregul
549813 549824 Opzoeken van parasieten, na verrijking, in faeces	400	12	
549872 549883 Opzoeken van Cryptosporidium, na verrijking, in faeces	400	12	
549894 549905 Opzoeken van Microsporidia	1000	30	78 ^A
549835 549846 Kweek die tenminste het opzoeken van Salmonella, Shigella, Yersinia en Campylobacter omvat, met identificatie van de kiemen in faeces	600	18	
549850 549861 Kweek van Clostridium difficile en opsporen van toxines A of B van Clostridium difficile in faeces	800	24	37 ^B
552311 552322 Opzoeken van rotavirus bij een kind, jonger dan twee jaar	200	6	
552333 552344 Opzoeken van adenovirus bij een kind, jonger dan twee jaar	200	6	
552016 552020 Opzoeken van infectieuze agentia met een immunologische techniek (max 3)	250	7,5	

Diagnostische procedure Totaal faecesstalen/jaar: 2400	Aantal/ jaar	Reagentia (incl. BTW)		Personeelskosten (incl. BTW)			Totale prijs	RIZIV- terugbetalin g ⁵
		Prijs/ staal	Totale prijs	Werkuren/ staal (min) ⁸	Personeels kosten/staal	Personeels kosten/jaar	Prijs/staal	
Bacteriële kweek ¹	2000	€ 5,1	€ 10.176,6	10,6	€ 8,5	€ 16.914,3	€ 13,5	€ 12,0
Quik Chek GDH-detectie ²	1400	€ 4,8	€ 6.776,0	3,6	€ 2,9	€ 4.000,0	€ 7,7	€ 7,5 ⁶
ImmunoCard toxins A&B: faeces	102	€ 13,6	€ 1.384,8	3,9	€ 3,1	€ 314,7	€ 16,7	€ 24,0
ImmunoCard toxins A&B: isolaat	56	€ 13,6	€ 760,3	3,9	€ 3,1	€ 172,8	€ 16,7	
Clostridium difficile agar	105	€ 1,1	€ 113,1	4,1	€ 3,3	€ 342,0	€ 4,3	
Xpert C. difficile	80	€ 48,5	€ 3.881,7				€ 48,5	
Quik Chek Shiga toxin-detectie ⁴	125	€ 12,1	€ 1.512,5	10,0	€ 8,0	€ 1.000,0	€ 20,1	€ 7,5 ⁶
CHROMagar O157	140	€ 1,5	€ 206,0				€ 1,5	
E. coli O157 latex test	100	€ 1,2	€ 121,0				€ 1,2	
Parasieten (microscopie)	412			17,5	€ 14,0	€ 5.768,0	€ 14,0	€ 12,0
Cryptosporidium spp. (microscopie)	438			6,3	€ 5,0	€ 2.202,5	€ 5,0	€ 12,0
Rota-strip antigenetectie	380	€ 2,2	€ 832,2	1,2	€ 1,0	€ 369,1	€ 3,2	€ 6,0 ⁷
Adeno-Strip 40/41 detectie	380	€ 2,8	€ 1.082,4	1,2	€ 1,0	€ 369,1	€ 3,8	€ 6,0 ⁷
Norovirus/rotavirus real-time PCR ³	260	€ 19,4	€ 5.033,6	22,5	€ 18,0	€ 4.680,0	€ 37,4	/
Totale aanvraag: minimum		€ 47,9		72,9	€ 58,3		€ 106,2	€ 51 (+ € 12) ⁷
Totale aanvraag: maximum		€ 125,9		84,6	€ 67,7		€ 193,6	€ 75 (+ € 12) ⁷
Totaal: jaarbasis (gemiddeld)	2400		€ 31.880			€ 36.132	€ 28,3	

Financiële impact: kostprijs moleculaire panels

Diagnostische procedure	Reagentia (incl. extractie en BTW)	Personeelskosten (incl. extractie en BTW)		Totale prijs (reagentia + personeelskosten)	RIZIV-terugbetaling
	Prijs/staal	Werkuren/staal (min)	Personeelskosten/s taal	Prijs/staal	
xTAG GPP	€ 51,0	15,0	€ 12	€ 63,0	€ 24 (+ € 12) ¹
GastroFinder SMART 17 FAST	€ 58,0	20,0	€ 16	€ 74,0	€ 24 (+ € 12) ¹

Financiële impact: vergelijking

Diagnostische procedures	aanvraag	kostprijs laboratorium	RIZIV	verlies
Conventionele methoden	gemiddeld	€ 28,3	?	?
	totale aanvraag	€ 106,2 - € 193,6	€ 51 (+ € 12)	€ 55,2 tot € 142,6 (- € 12)
xTAG GPP		€ 63	€ 24 (+ € 12)	€ 39 (- € 12)
GastroFinder SMART 17 FAST		€ 74	€ 24 (+ € 12)	€ 50 (- € 12)

Inhoudstafel



Decisions + to do's:

- **Grote troef moleculaire panels: hoge sensitiviteit (en NPW)**
 - Teleurstellend:
 - eigen onderzoek
 - Navidad *et al.*: met xTAG GPP amper bijkomende pathogenen gedetecteerd
 - **Hoge kostprijs en amper RIZIV-terugbetaling**
 - **Behandeling: enkel bij bacteriële pathogenen (en parasieten)**
 - Bacterieel panel genoeg? (Progastro SSCS Assay: € 15 incl. extractie en BTW)
-
- **Literatuur omtrent moleculaire panels opvolgen**
 - **Cascadetesting**
 - **Literatuur omtrent *in-house* PCR doornemen!!!**

**If 9 Out Of 10
Suffers From
Diarrhea**



**Does It Mean That 10th Person
Enjoys The Diarrhea?**