

SIGNIFICANT RAPPORTEREN VAN NIET-STERIELE STALEN

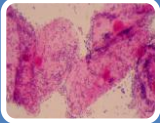


Christine Van Laer

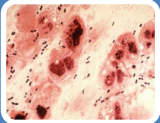
20 maart 2012

Supervisors: Dr. H. De Beenhouwer, Dr. K. Van Vaerenbergh, Apr. A. Boel

Inhoud

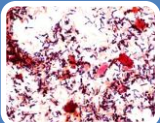


Genitale stalen

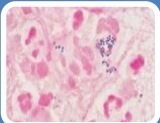


Respiratoire stalen

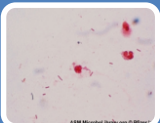
- Bovenste luchtwegen
- Diepe luchtwegen



Feces



Eiters



Urine

“If you report it, you must think it is significant”

York M. et al, Clinical microbiology newsletter 2006, 28
(11): 81-87

Inleiding

Routine bacteriële kweek: interpretatie?

1. Staaltipe

steriele stalen vs. niet-steriele stalen

↳ aanwezigheid commensale flora

2. Relatief aantal aanwezigheid potentiële pathogeen t.o.v. aanwezige flora

3. Microscopisch onderzoek

✓ **Uitwerking**

✓ Identificatie (ID)

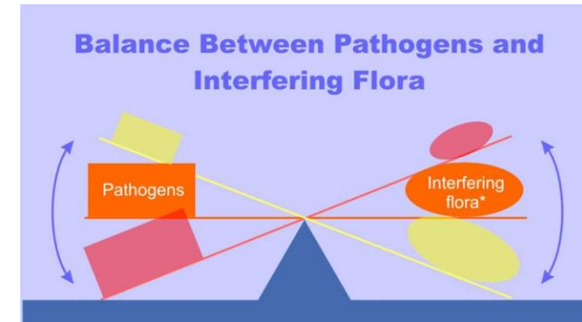
✓ Gevoeligheidsbepaling (AST)

✓ **Rapportering**

✓ Interpretatie

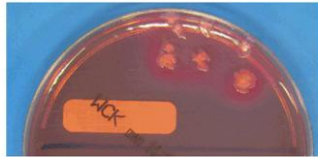
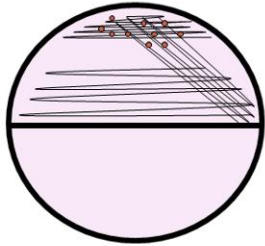
→ **correcte behandeling**

→ **over/onderbehandeling vermijden**

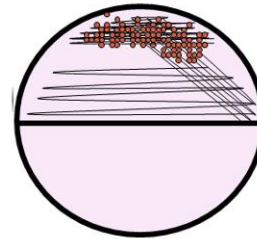


Inleiding: Semi-kwantitatieve rapportering

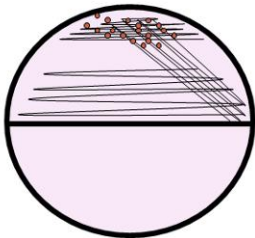
zz



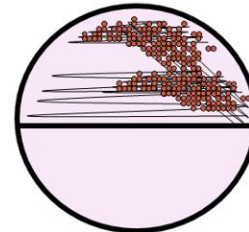
++



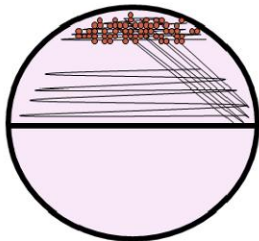
+-



+++



+

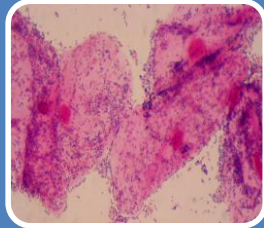


Inleiding

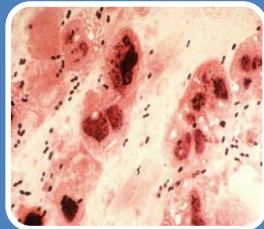
Niet-steriele stalen

1. Genitale stalen
2. Respiratoire stalen
3. Feces
4. Hemoculturen
5. Urineculturen
6. Etters

Inhoud



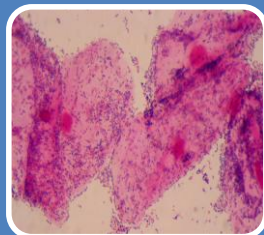
Genitale stalen



Respiratoire stalen

- Bovenste luchtwegen
- Diepe luchtwegen

Inhoud



Genitale stalen

1. Inleiding
 1. Genitale flora
2. Infectieuze vaginitis
 - A. Bacteriële vaginose
 - B. Vulvovaginale candidiasis
 - C. Trichomoniasis
3. Routine bacteriële cultuur
4. Leeftijd van de patiënt
5. Urethritis bij mannen
6. Besluit

1. Genitale cultuur

1. Inleiding: genitale stalen

- Urethra / Cervix / Vulva
 - kolonisatie van oppervlakten door verschillende micro-organismen
 - genitale infecties
 - < exogene infecties
 - *N. gonorrhoeae*
 - < commensale endogene micro-organismen (toename pathogeen vermogen)
 - *Streptococcus agalactiae*
 - *G. vaginalis*
 - ...
- Correcte diagnose genitale infecties
 - I. onderscheid
 - microbiologische pathogenen – potentiële pathogenen
 - normale genitale/urethrale flora
 - II. type infectie ≈ specifieke pathogeen

1. Genitale cultuur

1. Inleiding: genitale flora

Vrouw

Genitale flora
<i>Lactobacillus</i> spp.
<i>Corynebacterium</i> spp.
<i>Gardnerella vaginalis</i>
Coagulase negatieve stafylokokken
<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterococcus</i> spp.
<i>E. coli</i>
Anaeroben
α -hemolytische streptokokken
Gisten

Samenstelling afhankelijk van leeftijd

- prepuberaal
- volwassen vrouw
- Postmenopauzaal

→ complexe en dynamische samenstelling

1. Genitale cultuur

1. Inleiding: genitale flora

Vrouw

Genitale flora
<i>Lactobacillus</i> spp.
<i>Corynebacterium</i> spp.
<i>Gardnerella vaginalis</i>
Coagulase negatieve stafylokokken
<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterococcus</i> spp.
<i>E. coli</i>
Anaeroben
α -hemolytische streptokokken
Gisten

Man

Urethrogenitale flora
Coagulase negatieve stafylokokken
<i>Corynebacterium</i> spp.
<i>Micrococcus</i>
Viridans streptokokken
<i>Enterobacteriaceae</i>
...

Urethra bevat normaal relatief weinig flora

1. Genitale cultuur

2. Infectieuze vaginitis

Infectieuze vaginitis

- aspecifieke symptomen

1. Bacteriële vaginose 40-45%
 - *Gardnerella vaginalis*, anaeroben, ...
2. Vulvovaginale candidiasis 20-25%
 - *Candida albicans*, *Candida non-albicans* spp.
3. Trichomoniasis 15-20%
 - *Trichomonas vaginalis*

Cervicitis

1. *Neisseria gonorrhoeae*
2. *Chlamydia trachomatis*

1. Genitale cultuur

2. Infectieuze vaginitis

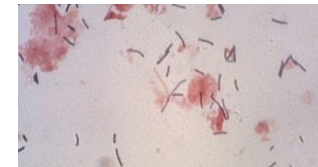
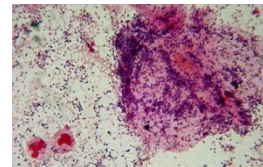
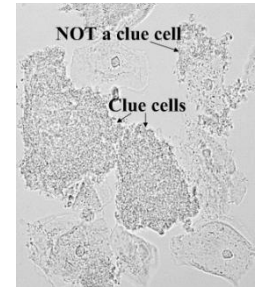
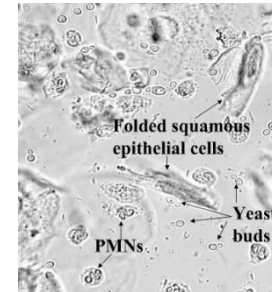
Microscopie

A. Rechtstreeks, nat onderzoek

- *Trichomonas vaginalis*

B. Gramkleuring

- Belang diagnostiek bacteriële vaginose
 - Sensitiviteit 93%, specificiteit 70% (Sobel J. *et al*¹⁰)
- Belang rapportering aanwezigheid epitheelcellen
 - Geeft informatie over de staalkwaliteit
- Aanwezigheid gisten
- Rapportering
 - epitheel / PMN / aan- of afwezigheid lactobacillen / dominant aanwezige morfotypes / 'Clue cells' / ...



1. Genitale cultuur

2. Infectieuze vaginitis

VARIABLE	NORMAL	VULVOVAGINAL CANDIDIASIS	BACTERIAL VAGINOSIS†	TRICHOMONIASIS	ATROPHIC VAGINITIS
Symptoms	None or mild, transient	Pruritus, soreness, change in discharge, dyspareunia	Malodorous discharge, no dyspareunia	Malodorous, purulent discharge; dyspareunia	Dyspareunia, vaginal dryness
Signs	—	Vulvar erythema, edema, fissure	Adherent discharge	Purulent discharge, vulvo-vaginal erythema	Vestibular and vaginal thinning
pH	4.0–4.5	4.0–4.5	>4.5	5–6.0	>6.0
Amine test	Negative	Negative	Positive (~70–80%)	Often positive	Negative
Saline microscopy	PMN:EC ratio <1; rods dominate; squames +++	PMN:EC <1; rods dominate; squames +++; pseudohyphae (~40%)	PMN:EC <1; loss of rods; increased coccobacilli; clue cells (>90%)	PMN ++++; mixed flora; motile trichomonads (60%)	PMN + to +++; loss of rods; increased cocci and coliforms; parabasal cells
10% potassium hydroxide examination	Negative	Pseudohyphae (~70%)	Negative	Negative	Negative
Miscellaneous	—	Culture if microscopy negative	Culture of no value	Culture if microscopy negative	—
Differential diagnosis	Physiologic leukorrhea	Contact irritant or allergic vulvitis, chemical irritation, focal vulvitis (vulvodynia)		Purulent vaginitis, desquamative inflammatory vaginitis, atrophic vaginitis plus secondary infection, erosive lichen planus	

*PMN denotes polymorphonuclear leukocytes, and EC vaginal epithelial cells.

†For bacterial vaginosis the criteria of Amsel et al.⁸ require the presence of three of four clinical signs for diagnosis: homogeneous discharge, a positive whiff-amine test, pH >4.5, and the presence of clue cells.

Tabel 1: Differentiële diagnose van vaginitis [Sobel J.¹⁰]

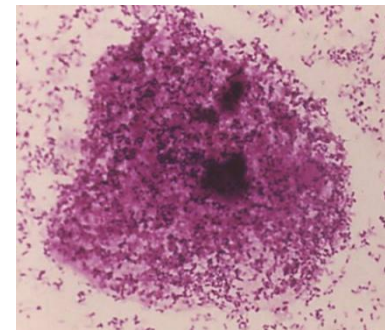
1. Genitale cultuur

A. Bacteriële vaginose

Bacteriële vaginose

= shift van lactobacillen naar *Gardnerella vaginalis*, anaeroben ...

- Niet veroorzaakt door één pathogeen, maar complexe verandering
 - *G. vaginalis* op zich geen pathogeen
- Flora vervangen door 100-1000x toename aantal bacteriën
- Kenmerken
 - Aanwezigheid “Clue cells”
 - Slecht riekende vaginale afscheiding
 - Verhoogde vaginale pH (>4,5)



‘Clue cell’ = vaginale epitheelcel beladen met bacteriën (celranden zijn niet meer zichtbaar)

1. Genitale cultuur

A. Bacteriële vaginose

	Normal	BV
<i>Lactobacillus</i>	High	Low
<i>Gardnerella vaginalis</i>	Varies	High
<i>Prevotella/Porphyromonas</i>	Low	High
<i>Peptostreptococcus</i>	Low	High
<i>Mobiluncus species</i>	Low	High
<i>Fusobacterium</i>	Low	Higher
<i>Mycoplasma hominis</i>	Low	Higher
<i>Atopobium vaginae</i>	Low	Higher
Total CFU/mL	10^5-10^7	$10^{10}-10^{11}$

NEJM 2005, 353:1899

1. Genitale cultuur

A. Bacteriële vaginose

Nugent's criteria Nugent *et al*²

gestandaardiseerde interpretatie Gramkleuring

score 0-3: normale flora

score 4-6: verstoorde flora

score 7-10: bacteriële vaginose

leeftijd: 12-55j

TABLE 1. Scoring system (0 to 10) for Gram-stained vaginal smears^a

Score ^b	Lactobacillus morphotypes	<i>Gardnerella</i> and <i>Bacteroides</i> spp. morphotypes	Curved gram-variable rods
0	4+	0	0
1	3+	1+	1+ or 2+
2	2+	2+	3+ or 4+
3	1+	3+	
4	0	4+	

^a Morphotypes are scored as the average number seen per oil immersion field. Note that less weight is given to curved gram-variable rods. Total score = lactobacilli + *G. vaginalis* and *Bacteroides* spp. + curved rods.

^b 0, No morphotypes present; 1, <1 morphotype present; 2, 1 to 4 morphotypes present; 3, 5 to 30 morphotypes present; 4, 30 or more morphotypes present.

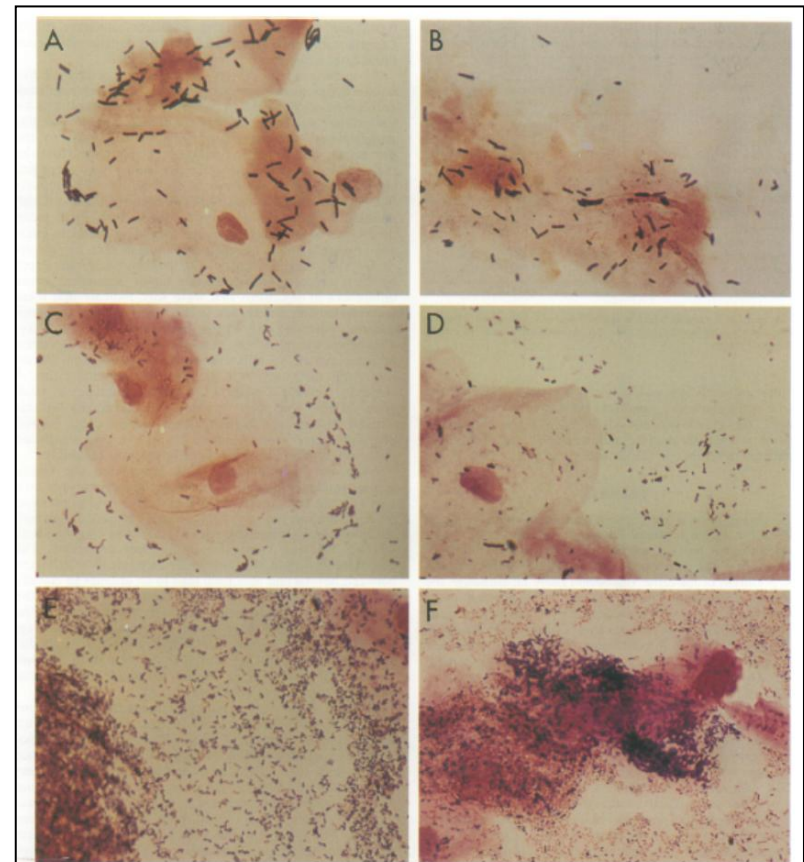


FIG. 1. Gram-stained vaginal smears from women with normal vaginal flora (A and B), intermediate vaginal flora (C and D), or bacterial vaginosis (E and F). (A) The 4+ lactobacillus morphotypes, no small gram-negative or gram-variable rods (score = 0); (B) 3+ lactobacilli morphotypes, 1+ *Gardnerella* spp. morphotypes (score = 2); (C) 3+ lactobacillus morphotypes and 3+ small gram-variable rods (score = 4); (D) 2+ lactobacillus morphotypes and 4+ small gram-negative and -variable rods (score = 6); (E) no lactobacilli and 4+ gram-negative and -variable rods (score = 8); note the margin of clue cells on the left; (F) no lactobacilli and 4+ gram-negative rods and curved rods (score = 10); note the *Mobiluncus* spp. morphotypes on the clue cell (center of field).

1. Genitale cultuur

A. Bacteriële vaginose

Microscopisch onderzoek

- 'Clue cells'
- Verstoorde flora
- Nauwelijks aanwezigheid PMN

→ **vaginose ≠ vaginitis**

BV

- geen inflammatoire respons
- indien aanwezigheid PMN
 - andere oorzaak vaginale klachten
 - geassocieerde vaginale infectie
 - T. vaginalis*
 - C. trachomatis*
 - N. gonorrhoeae*

1. Genitale cultuur

A. Bacteriële vaginose

Cultuur

- *G. vaginalis*: aanwezig in 50-60% van gezonde, asymptomatische vrouwen
→ interpretatie in functie van aanwezige hoeveelheid lactobacillen
- Richtlijnen cultuur *G. vaginalis*, Garcia *et al*³⁷
 1. Geen selectieve media voor cultuur
 - belang interpretatie ifv lactobacillen
 2. *G. vaginalis* < genitale flora
 - aanwezigheid *G. vaginalis* = commensale flora
 3. *G. vaginalis*: dominante + significante groei
 - bacteriële vaginose
 4. Kinderen
 - steeds vermelding, ongeacht aanwezige hoeveelheid

Cultuur: steeds aanwezigheid *G. vaginalis* bij BV ↔ aanwezigheid van *G. vaginalis* niet steeds BV

1. Genitale cultuur

A. Bacteriële vaginose

OLVZ

- *G. vaginalis*
 - Rapportering ifv genitale flora (lactobacillen)
 - Indien massaal
 - Indien aanwezigheid '*Clue cells*'
- 'Bacteriële vaginose'
 - Vermelding bij aanwezigheid van
 - '*Clue cells*'
 - *G. vaginalis* in cultuur
 - Gram: Gramvariabele staafjes
- Nugent's score: invloed van rapportering Gram volgens Nugent's score?

1. Genitale cultuur

B. Vulvovaginale candidiasis

- *Candida* spp. < normale flora huid en genitaliën
20-50% gezonde asymptomatische vrouwen
- Frequent voorkomende aandoening bij vrouwen
 - 70-75% 1 episode
 - 40-50% 2 episodes
 - 5-8% multiple episodes
- Species
 - 85-90% *C. albicans*
 - sterker adherent vermogen aan epitheelcellen
 - andere non-albicans *Candida* spp.
 - Lagere virulentie
 - *C. glabrata* meest voorkomende
 - *C. glabrata* en *C. parapsilosis*: infecties zijn milder of asymptomatisch

1. Genitale cultuur

B. Vulvovaginale candidiasis

- **Microscopisch onderzoek**
 - Beperkte sensitiviteit: 50%
 - Positieve microscopie → cultuur eigenlijk overbodig
- **Cultuur**
 - Klein aantal gisten (<10 kolonies)
 - eerder *Candida* kolonisatie
 - Garcia *et al*³⁷
 - steeds rapportering aanwezigheid *Candida albicans*
 - andere gisten: vermelding
 - ID: *C. albicans* vs. *Candida* non-albicans

Steeds correlatie kliniek – microscopie – cultuur

1. Genitale cultuur

B. Vulvovaginale candidiasis

OLVZ

- Gramkleuring (10x50)
- Mycologische kweek
 - Steeds
 - Gist aanwezig: kiembuistest
- Cultuur
 - 475/2717 (17,5%): gist aanwezig
 - 85% *C. albicans*
 - 15% *Candida non-albicans*



Candida spp.

- *Candida albicans*
- *Candida non-albicans*

Geeft dit onderscheid een echte klinische meerwaarde?

1. Genitale cultuur

C. Trichomoniasis

Trichomonas vaginalis

- 10% oorzaak van vaginitis
 - >50% asymptomatisch
- Parasiet
- Nat-preparaat
 - Sensitiviteit 60-70%
 - Specificiteit 100%



1. Genitale cultuur

3. Routine bacteriële cultuur

Routine bacteriële cultuur (Garcia *et al*³⁷)

Onderscheid

- ‘Niet-steriele’ stalen
 - Aanwezigheid PMN
 - Predominante (pathogene) kiem
 - Aan-/afwezigheid van lactobacillen
 - Steriele stalen / ‘hogere’ genitale tractus
-
- Pathogenen
 - **steeds ID/±AST**
 - Potentiële pathogenen (kunnen deel uit maken van vaginale flora)
 - **ID/±AST in bepaalde omstandigheden**

1. Genitale cultuur

3. Routine bacteriële cultuur

Garcia *et al*³⁷

✓ steeds ID/±AST

- *Streptococcus pyogenes*
- *Streptococcus agalactiae*
- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Listeria monocytogenes*
- *Candida* spp. (*C. albicans*)

1. Genitale cultuur

3. Routine bacteriële cultuur

Garcia *et al*³⁷

✓ steeds ID/±AST

- *Streptococcus pyogenes*
- *Streptococcus agalactiae*
- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Listeria monocytogenes*
- *Candida* spp. (*C. albicans*)

- Geen AB
- Rapportering aanwezigheid
- Vnl. bij vrouwen van vruchtbare leeftijd

1. Genitale cultuur

3. Routine bacteriële cultuur

Garcia *et al*³⁷

✓ID/±AST in bepaalde omstandigheden

- *Haemophilus* spp.
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Staphylococcus aureus*
- *Gardnerella vaginalis*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- Streptokokken groep C / G
- ...

- Invasief afgenomen staal
- Sterke groei en predominant micro-organisme (+ PMN)

- Aanwezigheid wijst eerder op verstoring normale flora
- Onderliggende problemen?

1. Genitale cultuur

3. Routine bacteriële cultuur

Garcia *et al*³⁷

✓ID/±AST in bepaalde omstandigheden

- *Haemophilus* spp.
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Staphylococcus aureus*
- *Gardnerella vaginalis*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- Streptokokken groep C / G
- ...

- Opsporen MRSA (<OLVZ)
- Rapportering
 - indien MRSA aanwezig (<OLVZ)
 - indien massaal *S. aureus* + PMN

1. Genitale cultuur

3. Routine bacteriële cultuur

- ***Enterokokken, E. coli, Klebsiella spp., Proteus spp., ...***

- behoren tot de endogene genitale flora
- aanwezig door fecale contaminatie
- geen oorzaak van vaginitis

rapportering + ID/AST

→ niet correct en onnodig antibiotica gebruik

- **Anaeroben**

- meng: geen afzonderlijke identificatie en rapportering

- ***N. meningitidis***

- *Case reports*: detectie in genitale stalen

1. Genitale cultuur

3. Routine bacteriële cultuur

- **Rapportering**

- Geen inventarisatie
 - I. Pathogenen en potentiële pathogenen
 - II. Aanwezige flora
 - Vrouw: Normale genitale flora
 - Man: Normale urethrale flora

- **OLVZ**

- Pathogeen
 - semikwantitatief ± AST
- 'Geen pathogenen geïsoleerd'
- 'Verstoorde flora, geen pathogenen aanwezig'
 - wanneer vermelden?
- 'Bacteriële vaginose'

1. Genitale cultuur

OLVZ

kiem	ID	invloed Gramkleuring	AST	rapportering
<i>S. agalactiae</i>	steeds	geen	neen*	semikwantitatief
<i>S. pyogenes</i>	steeds	aanwezigheid PMN	ja	semikwantitatief
<i>G. vaginalis</i>	significante hoeveelheid, verstoorde normale flora: gedaalde aanwezigheid lactobacillen	- 'Clue cells', - aanwezigheid van pleomorfe, Gram variabele staafjes/coccobacillen/ gekromde staafjes	neen	semikwantitatief bacteriële vaginose - duidelijk beeld in de Gramkleuring - ↓ lactobacillen of afwezigheid
<i>Candida spp.</i>	steeds (<i>C. albicans</i> / non-albicans)	-	neen	<i>C. albicans</i> / <i>Candida</i> non-albicans
<i>N. gonorrhoeae</i>	- op aanvraag - verdachte Gramkleuring	PMN en Gramnegatieve diplokokken	steeds	semikwantitatief
<i>S. aureus</i>	- steeds screening naar MRSA - massaal aanw	- / - PMN	screening MRSA	semikwantitatief rapportering MRSA / massale aanw <i>S. aureus</i>
<i>Haemophilus spp.</i>	- massaal aanw	aanwezigheid PMN	beta-lact	semikwantitatief
andere ...				

*indien vulvo-anaale screening voor GBS: AST bij penicilline allergie

1. Genitale cultuur

4. Leeftijd van de patiënt

- **Kinderen**

1. Nog geen normale vaginale flora

- *S. pyogenes* en *H. influenzae* verwekkers genitale infecties
- *Salmonella* spp. en *Shigella* spp. zeldzaam oorzaak vaginitis
 - Purulente vaginale secreties + dominante/zuivere groei: GNS lactose-: uitwerken

2. Seksueel misbruik

- *G. vaginalis*: steeds vermelden, ongeacht aanwezige hoeveelheid
- *N. gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, ... steeds vermelden

3. Vreemd-lichaam infecties

- **Ouderen**

Belang leeftijd van de patiënt: extra aandacht voor stalen van kinderen

1. Genitale cultuur

5. Urethritis bij mannen

Urethrale wisser man

- **Urethritis**

- Mucopurulente afscheiding, dysurie, pijn

- Urethritis

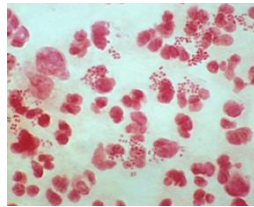
- ≥ 5 PMN/HPF

- 60-90% urethritis ≥ 5 PMN/HPF

- Infectieuze urethritis

- **Gonokken urethritis – niet-gonokokken urethritis (NGU)**

- *N. gonorrhoeae*



- vnl. *Chlamydia trachomatis*

- *Trichomonas vaginalis*, HSV, adenovirus

- *Mycoplasma* spp. en *Ureaplasma* spp.: ?

- streptokokken, stafylokokken, *Haemophilus* spp.,
Candida spp.: geen oorzaak

- **20-30%: oorzaak?**

1. Genitale cultuur

5. Urethritis bij mannen

Urethrale wisser man

- **Urethritis**

- *Ureaplasma* spp. en *Mycoplasma* spp.?

Aanwezig in genitale-urethrale tractus bij asymptomatische volwassenen

- ***Ureaplasma urealyticum***

- 2 *Ureaplasma urealyticum* spp.: ≠ pathogeniciteit en correlatie NGU
- $<10^4$ niet significant

- ***Mycoplasma genitalium***

- Detectie *M. genitalium* (PCR) mannen met acute NGU > geen NGU
- Diagnose
 - zeer trage groei op specifieke media (1-2 mnd)
 - PCR, maar nog geen commerciële, gestandaardiseerde assays beschikbaar

- ***Mycoplasma hominis***

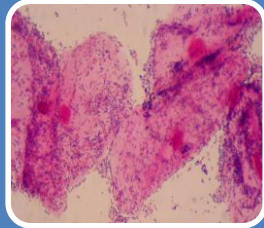
- geen evidentie voor NGU

1. Genitale cultuur

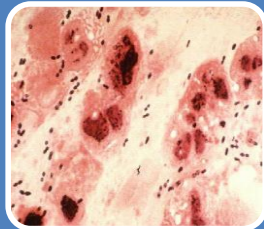
Besluit

- Pathogenen vs. potentiële pathogenen
- Rapportering (pot.) pathogenen vs. normale genitale flora
- Aandacht voor pathogenen die niet met routine cultuur gedetecteerd worden
- Belang Gramkleuring
 - PMN / BV
- Onderscheid *Candida albicans* – *Candida non-albicans*
- Belang leeftijd van patiënt
- *Ureaplasma* en *Mycoplasma* spp: klinische relevantie?
- **Steeds interpretatie in kader van klinische symptomen**

Inhoud



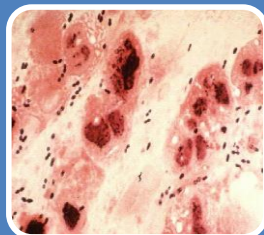
Genitale stalen



Respiratoire stalen

- Bovenste luchtwegen
- Diepe luchtwegen

Inhoud



Respiratoire stalen

- Bovenste luchtwegen
- Diepe luchtwegen

1. Bovenste luchtwegen

- A. Keel
- B. Neus & Nasofarynx

2. Diepe luchtwegen

- A. Inleiding
- B. Staalkwaliteit
- C. Aspiratiepneumonie
- D. Gramkleuring
- E. Rejectiecriteria
- F. Routine cultuur
- G. Gisten & Schimmels
- H. Interpretatie

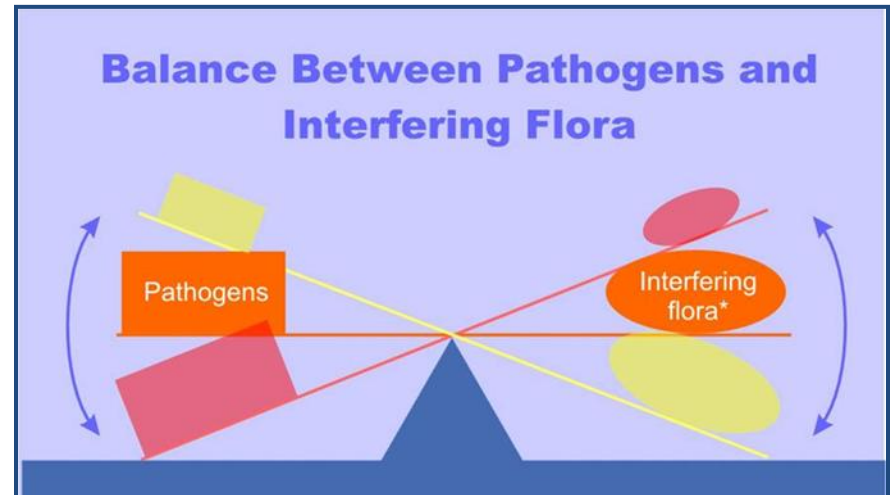
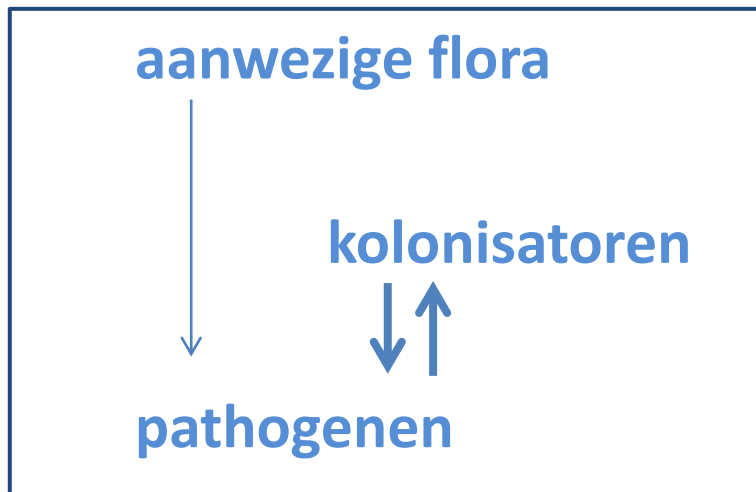
3. Besluit

2. Respiratoire stalen

1. Bovenste luchtwegen
2. Diepe luchtwegen

“The culture off lower respiratory specimens may result in more unnecessary microbiologic effort than any other type of specimen” *Bartlett R.C., 1974*

2. Respiratoire stalen



2. Respiratoire stalen

Microbiële flora bovenste luchtwegen

Viridans streptokokken

Commensale *neisseria* spp.

Corynebacterium spp.

Staphylococcus spp.

Anaeroben

Haemophilus spp.

Enterococcus spp.

Candida spp.

Groep F streptokokken

Eikenella

Stomatococcus spp.

...

speeksel: 10^9 tot 10^{10} bacteriën/mL

... ook mogelijk bij orofaryngeale flora

S. pneumoniae

S. pyogenes

Neisseria meningitidis

Moraxella catarrhalis

Gramnegatieven (bij AB gebruik)

...

2. Respiratoire stalen

1. Bovenste luchtwegen

- Oropharynx: keel → *S. pyogenes*
- Nasopharynx → virussen (PCR)
- Neus → screening *S. aureus* / MRSA

- Aanwezigheid van commensale flora
 - aanwezigheid van organismen die pathogeen kunnen zijn

- Geen routine kweek
 - vals positieve resultaten

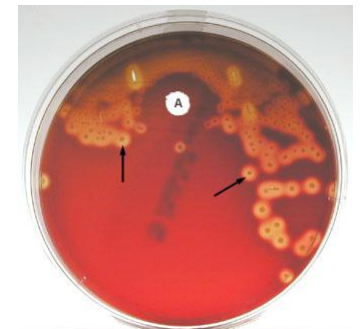
- Diagnose van specifieke pathogenen bij symptomatische patiënten

2. Respiratoire stalen

1. Bovenste luchtwegen

A. Keel

- Faryngitis
 - 70-95%: virale oorzaak (EBV, rhino-, corona-, adeno-, influenza virus, ...)
 - 15-20% (kind)] bacteriële oorzaak
 - <10% (volw)]
- Bacteriële faryngitis
 - ***S. pyogenes* of groep A streptokokken (GAS)**
 - aspecifieke symptomen
 - correcte behandeling
 - controverse**
 - ↓ transmissie, klachten
 - ↓ kans op acute reumatische koorts, ...



→ cultuur vereist voor correcte diagnose

2. Respiratoire stalen

1. Bovenste luchtwegen

A. Keel

- **Bacteriële faryngitis**

- *S. pyogenes*
- andere β -hemolytische streptokokken
 - Groep B / D / F: geen verwekkers van faryngitis
 - Groep C / G
 - *Small colony phenotypes: geen verband met faryngitis*
 - *Large colony phenotypes: potentiële oorzaak faryngitis*
(andere studies bevestigen dit verband niet)
Geen oorzaken van auto-immuun complicaties zoals reumatische koorts, ...
- *Arcanobacterium haemolyticum*, *Corynebacterium diphtheriae*, *N. gonorrhoeae*

- ~~• *S. pneumoniae* en *H. influenzae*~~
 - ~~• Gramnegatieven~~
- Geen verwekkers faryngitis
 - Rapportering
 - **misleidende resultaten!**

2. Respiratoire stalen

1. Bovenste luchtwegen

A. Keel

I. Gramkleuring: niet vereist (*Cumitech / Garcia et al*)

- orofaryngeale stalen: steeds aanwezigheid van commensale streptokokken

II. Cultuur & rapportering

- Steeds opsporen *S. pyogenes*
 - *Cumitech*: steeds ook large-colony fenotypes groep C en G
 - *Garcia et al*: detectie groep C of G afh. van afspraken tussen labo en clinici
- Specifieke rapportering aan- of afwezigheid *S. pyogenes*
- Geen vermelding andere organismen zoals commensale flora
- Steeds correlatie met klinische symptomen
 - detectie *S. pyogenes* ≠ infectie *S. pyogenes*

III. AST

- Penicilline → niet vereist
- Peni-allergie: AST voor macroliden en clindamycine

Rapporteer wat opgespoord wordt:

- GAS
- Pathogene strep. (A/C/G)

2. Respiratoire stalen

1. Bovenste luchtwegen

A. Keel

OLVZ

I. Microscopie

- geen Gramkleuring

II. Cultuur

- Screening naar *S. pyogenes*
 - Elke aanwezigheid: ID/AST
- Andere organismen geen afspraak
 - ervaring: massale aanwezigheid groep C / G → ID/AST

**afspreek maken over
uitwerking en rapportering
groep C/G streptokokken**

III. Rapportering

- Geen *S. pyogenes* aanwezig
- *S. pyogenes* aanwezig

semikwantitatief + AB (steeds)

2. Respiratoire stalen

1. Bovenste luchtwegen

B. Neus & nasofarynx

Neus: nasale wisser

- Cultuur nasale wisser niet informatief voor etiologie van infecties van sinus/oor/lagere luchtwegen
- Screening voor MRSA

OLVZ: screening MRSA (en eventueel *S. aureus*)

Nasofaryngeaal aspiraat

- Geen cultuur *Garcia et al*
- Potentiële pathogenen kunnen deel uitmaken van commensale flora
 - Klinische relevantie voor aanwezigheid *S. pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, ... ?
- PCR: virale oorzaak

OLVZ: PCR voor detectie virussen

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

A. Inleiding

- Acute bronchitis: meestal virale oorzaak
- Diagnose bacteriële pneumonie
 - Sputum → steeds besmet met MF
 - Bronchiaal aspiraat → niet vrij van bijbesmetting met MF
 - Tracheaal aspiraat → niet vrij van bijbesmetting met MF
 - Broncho-alveolaire lavage (BAL) → meest betrouwbare

Goede staalafname zeer belangrijk!

aanwezigheid van mondflora in diepere resp. stalen tot minimum te beperken

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

Pathogenen **bacteriële** pneumonie

Community Acquired	Healthcare Associated
<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>
<i>S. aureus</i>	<i>S. pneumoniae</i>
<i>H. influenzae</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>M. catarrhalis</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>K. pneumoniae</i>	andere NF GNS
<i>Legionella</i>	<i>Acintobacter baumannii</i>
Anaeroben	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

A. Inleiding

Gramkleuring

1. Kwaliteit staal
2. Type en aantal WBC (neutrofielen)
→ indicatie voor infectie
3. Type en aantal epitheelcellen (bronchiaal vs. plaveisel epitheel)
→ indicatie voor contaminatie
4. Morfologie en aantal micro-organismen
→ correlatie cultuur; snelle informatie

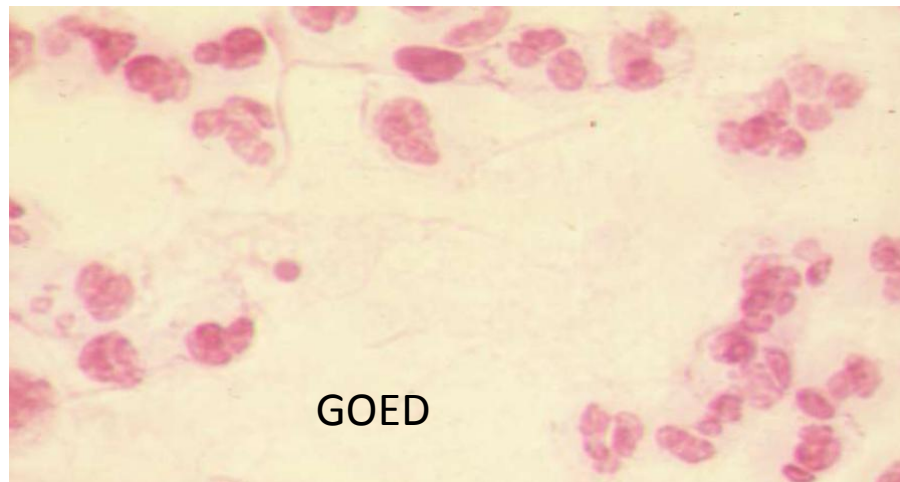
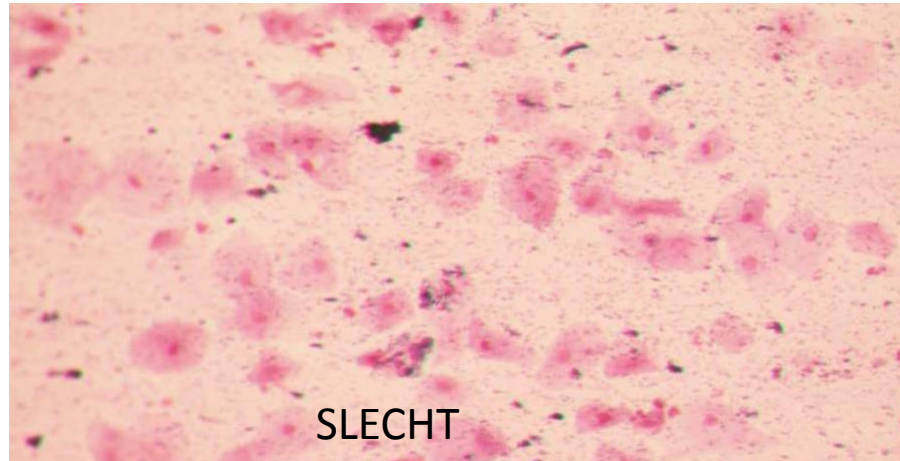
- Gramkleuring vs. staalkwaliteit
 1. Q-score
 2. Epitheelcellen/PMN

Ideaal resp. staal

- Geen plaveiselepitheel
- PMN

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen



2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

B. Staalkwaliteit

A. Q-score (Bartlett JC, 1974)

Q-Score = # of potential pathogens (PP) to work up

		Score → ↓	Squamous Epithelial Cells			
			No Cells	1-9/lpf	10-24/lpf	≥25/lpf
Neutrophils	No Cells	0	3	0	0	0
	1-9/lpf	+1	3	0	0	0
	10-24/lpf	+2	3	1	0	0
	≥25/lpf	+3	3	2	1	0

Q0 & Q1 Not representative of lower respiratory tract secretions

Q2 Process; report with comment "Evidence of superficial contamination"

Q3 Proper deep sputum

Score: 0/1 → slechte kwaliteit: vermelding / verwerping

Kan gebruikt worden als basis uitwerkingscriteria

2. Respiratoire stalen

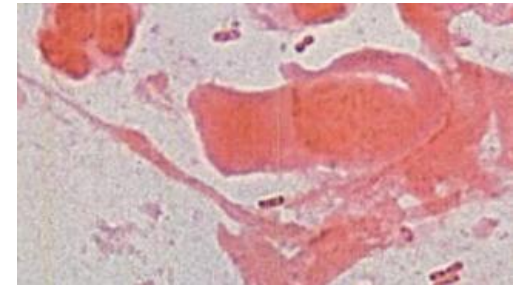
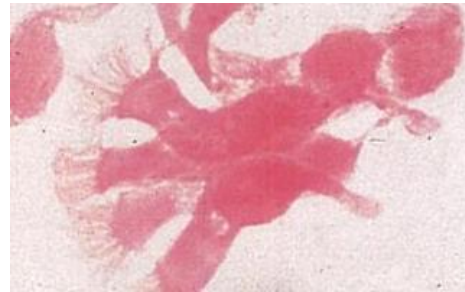
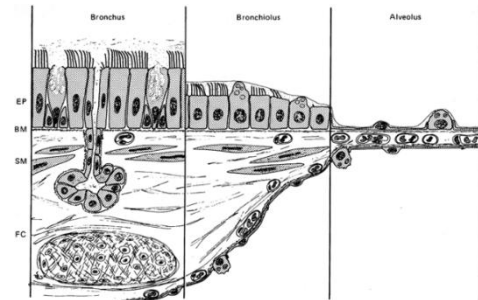
2. Diepe luchtwegen

B. Staalkwaliteit

B. Plaveiselepitheel

- >10 SEC / LPF (ongeacht # PMN) Garcia *et al*³⁷
 - indicatief voor sterke speekselcontaminatie
 - vermelding / verwerping

Belang onderscheid bronchiaal vs. plaveisel epitheel



Marler L., Direct smear atlas: a monograph of gram-stained preparations of clinical specimens

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

C. Rejectiecriteria

- Sterke contaminatie met speeksel: rejectie voor bacteriële cultuur
 - I. **Kosteneffectief**
 - II. **Vermijden van rapportering van misleidende informatie**
- Gramkleuring: **Garcia *et al*³⁷**
 - a) verwerp geen stalen voor *Legionella* cultuur
 - b) verwerp o.w.v. van slechte afname of niet suggestief voor bacteriële infectie
 - I. Sputum: ≥ 10 plaveiselepitheelcellen/LPF
uitz.: PMN 10x epitheelcellen, '+++⁷' van eenzelfde morfotype: aanvaard het staal
 - II. Tracheaal asp.
 - I. volwassene: ≥ 10 plaveiselepitheelcellen/LPF of afwezigheid van micro-organismen
 - II. kinderen: afwezigheid van micro-organismen

Verschillende beschreven rejectiecriteria: 25 plaveiselepitheelcellen/LPF

→ te weinig rejectie

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

C. Rejectiecriteria

Toepassing rejectiecriteria: duidelijke rapportering

- Aanwezigheid van ≥ 10 plaveiselepitheelcellen/LPF, suggestief voor een slechte kwaliteit van het staal. Cultuur wordt niet uitgevoerd. Graag nieuw staal indien klinisch geïndiceerd. (Garcia *et al*³⁷)
- De Gramkleuring toont geen aanwezigheid van bacteriën. Cultuur wordt niet uitgevoerd. Contacteer het laboratorium indien verder onderzoek klinisch geïndiceerd is. (Garcia *et al*³⁷)
- De aanwezigheid van plaveiselepitheel in het staal wijst op de aanwezigheid van oppervlakkig materiaal dat contaminerende of koloniserende bacteriën bevat die niet gerelateerd zijn met infectie. Afname van een nieuw staal is wenselijk. (Cumitech 7B²)
- Niet representatief voor diepere respiratoire secreten, graag nieuw staal. (Cumitech 7B²)
- + graag een tweede afname van een nieuw staal indien klinisch relevant en indien nog geen antimicrobiële therapie gestart werd (Cumitech 7B²)

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

C. Rejectiecriteria

OLVZ

- Geen gebruik van rejectiecriteria

- Vermelding: “weinig representatief”

- Relatief weinig vermelding

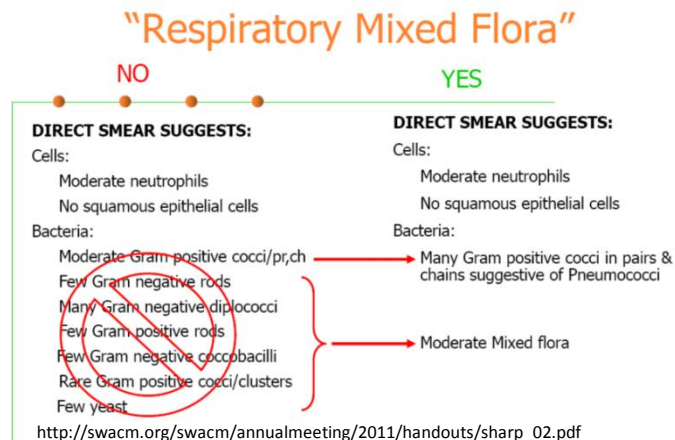
**Afspraken voor vermelden
commentaar voor beperkte
staalkwaliteit**

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

D. Gramkleuring

- Epitheelcellen (plaveisel- vs. bronchiaal epitheel)
- PMN
- Mondflora (geen opsomming van alle soorten kiemen)



- Overheersende kiemen (Bv: GNS / GND / GNC / ...)
- Gisten (vermelding gram: MF → MFG (<OLVZ))

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

D. Gramkleuring

Interpretatie: correlatie met cultuur, Garcia *et al*³⁷

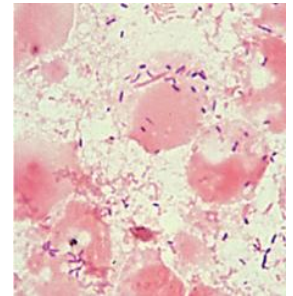
- Primair pathogeen in cultuur, moet ook in Gramkleuring aanwezig zijn
- Bij groei van een of meerdere kiemen die niet in Gramkleuring beschreven werden → 2^{de} maal aflezen Gramkleuring
- Rapportering morfotypes

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

E. Bacteriële aspiratiepneumonie

- Aspiratie orofaryngeale secreten: aeroben + anaeroben
- Definitie o.b.v. Gramkleuring (Sharp S. *et al*²):
 - ≤ 10 plaveiselepitheelcellen
 - ≥ 25 PMN
 - gemengde orale flora (≥ 50 micro-organismen/HPF)
 - intracellulaire kiemen: meng Grampos en Gramneg
- Indien geen AB, in principe geen cultuur nodig



Vermelding o.b.v. Gram

- ✓ Barenfanger *et al*⁶: *A variety of organisms (pleomorphic gram-negative rods and gram-positive cocci and rods) are present inside neutrophils. This is highly suggestive of aspiration pneumonia. Antibiotic coverage for anaerobic bacteria should be considered in addition to therapy for the standard pathogens.*
- ✓ OLVZ: “Beeld van aspiratie”

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

F. Routine cultuur

Wat uitwerken?

afhankelijk van ...

- microscopisch onderzoek (Gramkleuring)
- aantal soorten potentiële pathogenen (PP)
- hoeveelheid tov mondflora
- aanwezigheid PMN
- staalsoort
 - sputum vs. BAL
- verpleegeenheid (IZ - hemato)
- antibioticagebruik
- ...

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

H. Routine cultuur

Voorbeeld: Q-score

- > 3 organismen kunnen potentiële pathogenen (PP) zijn
 - ID/AST bij een staal van goede kwaliteit Q3
- Hoe lager de kwaliteit
 - Minder organismen/pathogenen die uitgewerkt worden
- # PP in culture (2PP) \leq Q-score (Q3): werk uit PP met ID/AST
- # PP in culture (3pp) > Q-score (Q2): afh van Gram
 - werk kiemen uit gezien in Gram (ID/AST)
 - alle PP in cultuur gezien in Gram = werk niet volledig uit; morfologische ID en rapportering / meng

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

F. Routine cultuur

Garcia *et al.*

Significante groei

- = goede/gemiddelde groei op 2^{de} / 3^{de} kwadrant
- = belangrijkere mate aanwezig dan MF
- = kleinere hoeveelheden primaire pathogeen in de cultuur
 - als predominant morfotype in Gramkleuring beschreven
 - aanwezigheid PMN

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

- Pathogenen die deel uit kunnen maken van MF

Organisme	Garcia <i>et al</i> Semikwant. hh	Garcia <i>et al</i> Actie	OLVZ
Micro-organismen die deel van MF kunnen uitmaken			
<i>s. pyogenes</i>	Steeds	ID/ geen AST (AST indien peni-all)	steeds ID/AST
<i>S. pneumoniae</i>	≤ MF	geen ID, rapporteer bij MF	steeds ID/AST
	significante groei + >MF	ID/AST	steeds ID/AST
<i>S. aureus</i>	≤ MF	screen MRSA, rapporteer bij MF indien geen MRSA	sreen MRSA
	significante groei + >MF	ID/AST	idem
<i>M. catarrhalis</i>	≤ MF	geen ID, rapporteer bij MF	idem
	significante groei + >MF	ID/AST	geen AST*
<i>H. influenzae</i>	≤ MF	geen ID, rapporteer bij MF	idem
	significante groei + >MF	ID/AST (beta-lact)	ID/beta-lact
<i>N. meningitidis</i>	≤ MF	geen ID, rapporteer bij MF	idem
	significante groei + >MF	ID/AST (beta-lact)	ID/AST
groep B, C, G streptokokken	≤ MF	geen ID, rapporteer bij MF Steeds bij neonaten	Strep B bij neonaten
	significante groei + >MF	ID/ geen AST (wel bij peni-all)	ID/steeds AST
andere normale flora	indien BAL: significante + zuivere groei	coag neg staf, enterokokken, ... ID/AST	vermelding aanwezigheid
Anaeroben	...		

* Vermelding MORCAT: Therapie mogelijk met amoxicilline/clavulaanzuur, macrolide of cefuroxime

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

- **Pathogenen die deel uit kunnen maken van MF** Garcia *et al*

Rapportering van normale MF: kan leiden tot onnodig AB gebruik

- Coagulase negatieve stafylokokken
 - vermeld (zonder volledige ID en AST) als >90% zuiverheid
- Enterokokken
 - rapporteer als >90% zuiverheid
- *Corynebacterium* spp.
 - rapporteer als IZ en ++/+++ en dominante kiem
- ...

York M. *et al*⁵:

“Gemengde Grampositieve kiemen, geen gewone commensale flora aanwezig”

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

- Gramnegatieven

Organisme	Garcia <i>et al</i> Semikwant. hh	Garcia <i>et al</i> Actie	OLVZ
Gramnegatieven			
<i>P. aeruginosa</i>	Steeds	ID/AST	ID/AST (steeds bij eerste x isolatie)
Enterobacteriaceae 1 of 2 soorten	≤ MF	geen ID/AST (tenzij IZ, IG)	rapportering bij MF
	significante groei + >MF	ID/AST	ID/AST
GNS >2 soorten	≤ MF	geen ID/AST **	rapportering bij MF
	significante groei + >MF	beperkte ID (tenzij IZ, IG)	afh v context
andere non-fermenters	≤ MF	ID/AST	afhankelijk van aantal
	significante groei + >MF	ID/AST	idem

** Vermeld alle soorten GNS: bv. Meng van GNS, waaronder 2 lactose fermenters en 1 niet-lactose fermenter, geen *Pseudomonas aeruginosa*

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

- Grampositieven

Organisme	Garcia <i>et al</i> Semikwant. hh	Garcia <i>et al</i> Actie	OLVZ
Grampositieven			
<i>Corynebacterium</i> spp.	≤ MF	geen ID, rapporteer bij MF	idem
	significante, zuivere groei + >MF	ID	ID
<i>Actinomyces</i> spp.	Steeds	AD/AST	idem

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

G. Gisten en schimmels

- Pneumonie door *Candida* spp. is **zeer zeldzaam**
- Diagnose
 - niet door aanwezigheid van *Candida* spp. in microbiële kweek
 - aantonen weefselinvasie histopathologisch onderzoek
 - Meersseman *et al*³⁴: 232 overleden patiënten IZ: geen enkele *Candida* pneumonie kon histopatologisch aangetoond worden.
- **Over-rapportering aanwezigheid gisten → gebruik van antifungale middelen**
 - Barenfanger J. *et al*³³:
 - ID van gisten → “gist”
 - *Candida* spp.: hoger onnodig antifungale middelen gebruik, hogere ZH kost, verlengde hospitalisatie duur

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

G. Gisten en schimmels

Organisme	Garcia et al (37) Semikwant. hh	Garcia et al (37) Actie	OLVZ
Schimmels en gisten			
<i>Candida</i> spp.	Steeds	geen ID	mondflora met gist
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Steeds	ID	Idem
<i>Aspergillus</i> spp.	Steeds	ID	Idem

* *Candida* spp. < MF

- vermelding: MFG
- geen afzonderlijke vermelding: gist

** *Penicillium* spp.: omgevings contaminatie

- geen vermelding / vermelding + commentaar 'contaminant'

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

H. Interpretatie

Bij 40-60% geen pathogeen detectie

- **Een negatieve cultuur sluit respiratoire infectie niet uit!**
 - Reeds AB gebruik
 - Lage sensitiviteit van sputum kweek ter detectie van *S. pneumoniae*
 - Infectie door ander organisme: viraal, ...
 - Laattijdige enting (langdurig transport): *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ↓
 - Moeilijke groei van verschillende pathogenen: *Legionella*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*
 - Aanwezigheid van pathogeen wordt verborgen door aanwezige mondflora
 - Slechte staalafname

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

H. Interpretatie

- **Vals positieve resultaten**

- Contaminatie door respiratoire flora
- Over-interpretatie/rapportering door laboratorium

→ Overbehandeling met AB

→ Resistentie toename

2. Respiratoire stalen

2. Diepe luchtwegen

OLVZ

- Geen groei
- Commensale flora
- Commensale flora met gist

- Pathogeen → tabel
 - semikwantitatief
 - ± AST

2. Respiratoire stalen

3. Besluit

- Overinterpretatie/rapportering → overbehandeling
- Bovenste luchtwegen
 - Geen algemene routine cultuur
 - Cultuur en rapportering specifieke kiem
- Diepe luchtwegen
 - Belang staalkwaliteit
 - Belang Gramkleuring
 - Staalkwaliteit
 - Aspiratiepneumonie
 - ...
 - Interpretatie en uitwerking: afhankelijk van verschillende factoren
 - Geen afzonderlijke vermelding aanwezigheid gisten

To do

- Opfrissing MLT
- Rondvraag andere centra en vergelijking
- Aangehaalde topics verder bekijken

- Vragen



Referenties

Guidelines and Recommendations

¹ Waites K. et al, Cumitech 10A Laboratory Diagnosis of Upper Respiratory Tract Infections, ASM press 2006

² Sharp S. et al, Cumitech 7B, Lower Respiratory Tract Infections, ASM press 2004

³ Busno A., Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Group A Streptococcal Pharyngitis, IDSA guidelines, Clinical infectious Diseases 2002, 35: 113-125

Reviews

⁴ Lo T. et al, Avoiding laboratory pitfalls in infectious diseases, Postgrad Med Journal 2004, 80: 660-662

⁵ York M. et al, Managing Microbiology Specimen Workups: Top 10 list off Do's and Don't, Clinical microbiology newsletter 2006, 28 (11): 81-87

⁶ Barenfanger J. et al, Quality Assurances: Decreasing Clinically Irrelevant Testing from Clinical Microbiology Laboratories, part I, Clinical Microbiology Newsletter 2006, 28 (3): 17-24

⁷ Barenfanger J. et al, Quality Assurances: Decreasing Clinically Irrelevant Testing from Clinical Microbiology Laboratories, Part II, Clinical Microbiology Newsletter 2006, 28 (4): 25-297

⁸ Larsen B., Understanding the Bacterial Flora of the Female Genital Tract, Clinical Infectious Diseases 2001, 32: 69-77

⁹ Ilkit M., The epidemiology, pathogenesis, and diagnosis of vulvovaginal candidosis: A mycological perspective, Critical Reviews in Microbiology 2011, 37 (3): 250-261

¹⁰ Sobel J, Vaginitis, New England Journal of Medicine 1997, 337: 1896-1903

¹¹ Granato P., Vaginitis: Clinical and Laboratory Aspects for Diagnosis, Clinical Microbiology Newsletter 2010, 32 (15): 111-116

¹² Donders G., Definition and classification of abnormal vaginal flora, Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology 2007, 21 (3): 355-373

¹³ Sobel J, Vulvovaginal candidosis, The Lancet 2007, 369: 1961-1971

¹⁴ Mylonas I. et al, Diagnosis of Vaginal Discharge by Wet Mount Microscopy: A simple and Underrated Method, Obstetrical and Gynecological Survey 2011, 66 (6): 359-368

¹⁵ Ishihara S., *Mycoplasma genitalium* urethritis in men, International Journal of Antimicrobial Agents 2004, 24S: 23-27

¹⁶ Bartlett J., Diagnostic Tests for Agents of Community-Acquired Pneumonia, Clinical Infectious Diseases 2011: 52 (suppl 4): 296-304

¹⁷ Barenfanger J. et al, Quality In, Quality out: Rejection Criteria and Guidelines for Commonly (Mis)Used Tests, Clinical Microbioloy Newsletter 2000, 22 (9): 65-72

¹⁸ Campbell S. et al, The Clinical Microbiology Laboratory in the Diagnosis of Lower Respiratory Tract Infections, Journal of Clinical Microbiology 2011, 49 (9): 30-33

¹⁹ Robinson A. et al, Assessing Microbiology Test Orders and Specimen Quality, Clinical Microbioloy Newsletter 2005, 27 (10): 78-82

Referenties

Original Articles

- ²⁰Cunney R. et al, Interpretative reporting and selective antimicrobial susceptibility release in non-critical microbiology results, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2000, 45: 705-708
- ²¹Nugent R. et al, Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation, *Journal of Clinical Microbiology* 1991, 29 (2): 297-301
- ²²Geisler W. et al, Vaginal leucocyte counts in women, with bacterial vaginosis: relation to vaginal and cervical infections, *Sexually Transmitted Infections* 2004, 80: 401-405
- ²³Kennedy M. et al, Vulvovaginal candidiasis Caused by Non-albicans Species: New Insights, *Current Infectious diseases reports* 2010, 12 (6): 465-470
- ²⁴Dennerstein G. et al, Pathogenicity of Non-albicans yeasts in the Vagina, *Journal of Lower Genital Tract Disease* 2011, 15 (1): 33-36
- ²⁵Goldacre M. et al, Vaginal microbial flora in normal young women, *British Medical Journal* 1979, 1: 1450-1453
- ²⁶Cuadros J. et al, The aetiology of paediatric inflammatory vulvovaginitis, *European Journal of Pediatrics* 2004, 163: 105-107
- ²⁷Carroll K., Laboratory Diagnosis of Lower Respiratory Tract Infections: Controversy and Conundrums, *Journal of Clinical Microbiology* 2002, 40 (9): 3115-3120
- ²⁸Bowie W., Comparison of Gram stain and first-voided urine sediment in the diagnosis of urethritis, *Sexually Transmitted Diseases* 1978, 5 (2): 39
- ²⁹Janier M. et al, Male Urethritis with and Without Discharge: A Clinical and Microbiological Study, *Sexually Transmitted Diseases* 1995, 22 (4): 244-252
- ³⁰Zaoutis T. et al, The role of group C and group G streptococci in acute pharyngitis in children, *Clinical Microbiology and Infection* 2004, 10: 37-40
- ³¹Fox K. et al, Role of Beta-Hemolytic Group C Streptococci in Pharyngitis: Incidence and Biochemical Characteristics of *Streptococcus equisimilis* and *Streptococcus anginosus* in Patients and Healthy Controls, *Journal of Clinical Microbiology* 1993: 31 (4): 804-807
- ³²Bisno A. et al, Diagnosis of Strep Throat in Adults: Are Clinical Criteria Really Good Enough, *Clinical Infectious Diseases* 2002, 35: 126-129

Referenties

³³Barenfanger J. et al, Improved Outcomes Associated with Limiting identification of Candida spp. In Respiratory Specimens, Journal of Clinical Microbiology 2003, 41 (12): 5645-5649

³⁴Meersseman W. et al, Significance of the isolation of Candida species from airway samples in critically ill patients: a prospective, autopsy study, Intensive Care Medicine 2009, 35: 1526–1531

³⁵Orellana M. et al, Sensitivity of Gram stain in de the diagnosis of urethritis in men, Sexually Transmitted infections 2012: 1-4

Reference Works, Handbooks and Databases

³⁶Verhaegen J, Lagrou K. en Pyckavet M., Medische microbiologie voor laboratoriumtechnologen, deel 2, Uitgeverij Acco Leuven 2010, p 76-111

³⁷Carcia L et al, Clinical Microbiology Procedures Handbook, 3th ed 2007. p 1.1.1-4.13.3

³⁸Versalovic et al, Manual of Clinical Microbiology Volume 1, 10th ed 2011. p 253 - 260

Online

³⁹Up to date online, 2012 – Candida vulvovaginitis

⁴⁰Up to date online, 2012 – Vulvovaginal complaints in the prepubertal child

⁴¹Up to date online, 2012 - Infectious causes of dysuria in adult men