

NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR
MEDISCHE MICROBIOLOGIE





Ecalta®

Als medicatieveiligheid telt

- Geen klinisch relevante geneesmiddelen interacties¹⁻⁵
- Geen dosisaanpassing in verband met gewicht, lever- en nierfunctiestoornissen¹⁻⁵



Ecalta™
(anidulafungin IV)
Doeltreffend en gemakkelijk¹⁻⁵

Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie

Het Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie is het officiële orgaan van de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie (NVMM). Het doel van het tijdschrift is de lezers te informeren over ontwikkelingen betreffende het vakgebied. In het tijdschrift worden zowel fundamentele als klinische aspecten van de medische microbiologie belicht. Daarnaast biedt het plaats voor promoties e.d., nieuws over evenementen en mededelingen uit de (werkgroepen van de) vereniging.

NVMM-secretariaat

Postbus 21020, 8900 JA Leeuwarden
Tel. (058) 293 94 95
Fax (058) 293 92 00
E-mail: nvmm@knmg.nl
Internet: www.nvmm.nl

Hoofdredactie

Dr. G.I. Andriess, mw. dr. E. Heikens
Redactie
Mw. dr. I.A.J.M. Bakker-Woudenberg,
mw. drs. M. Jager, dr. J.A. Kaan,
dr. J.S. Kalpoe, B. Meek, dr. M. Van Rijn,
dr. H.F.L. Wertheim, R. te Witt

Redactiesecretariaat

Van Zuiden Communications B.V.
Mw. M.S. Kapteyn-Brus
Tel. (0172) 476191, e-mail:
kapteyn@vanzuidencommunications.nl

Advertentie-exploitatie

Van Zuiden Communications B.V.
Dhr. D. Mackay
Tel. (0172) 47 61 91

Oplage en frequentie

900 exemplaren, 4 x per jaar

Abonnementen

Gratis voor leden van de NVMM en leden van de VIZ.
Niet-leden NVMM of VIZ in Nederland:
€ 61,- per jaar
Buiten Nederland, in Europa: 85,- per jaar
Losse nummers: 12,50
Opgave abonnementen:
Tel. (0172) 47 61 91



© 2013, Van Zuiden Communications B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vervoerd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enige andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever. Uitgever en redactie verklaren dat deze uitgave op zorgvuldige wijze en naar beste weten is samengesteld; evenwel kunnen uitgever en redactie op geen enkele wijze instaan voor de juistheid of volledigheid van de informatie. Uitgever en redactie aanvaarden dan ook geen enkele aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die het gevolg is van bedoelde informatie. Gebruikers van deze uitgave wordt met nadruk aangeraden deze informatie niet geïsoleerd te gebruiken, maar af te gaan op hun professionele kennis en ervaring en de te gebruiken informatie te controleren.

Algemene voorwaarden

Op alle aanbiedingen, offertes en overeenkomsten van Van Zuiden Communications B.V. zijn van toepassing de voorwaarden die zijn gedeponereerd bij de Kamer van Koophandel te Leiden.

ISSN 0929-0176



Inhoud

Van de redactie	130
Transmissieroute	
Overpeinzingen van een terugtrekend microbioloog <i>P.H. Rothbarth</i>	131
Artikelen	
Mazelen: de epidemie en het eradicationprogramma <i>J.W. Dorigo-Zetsma, R. van Binnendijk</i>	132
Het influenzaseizoen 2012/2013 in Nederland: een milde maar langdurige epidemie <i>J.C. de Jong, G.A. Donker, A. Meijer, W. van der Hoek, M.M.A. de Lange, G.F. Rimmelzwaan, A.D.M.E. Osterhaus</i>	135
Thema: Serologie (2)	
Serologische diagnostiek van acute denguevirusinfecties bij Nederlandse reizigers: de bruikbaarheid van Point of Care Testing en de invloed van IgG-kruisreactiviteit <i>F.F. Stelma, C. Liem, J. van Baars, M.F.C.T. Beersma, N.M.R. van der Haar, J.L.A.N. Murk</i>	143
Diagnostiek van syfilis <i>C.W. Ang</i>	150
Groeten uit Vietnam	
Xin chào! <i>M.E. Kolader</i>	156
CBG	
Regulatoire aspecten bij de ontwikkeling van antibiotica voor multiresistente bacteriën (2) <i>A. Vollaard, B. Voordouw</i>	159
Samenvatting proefschrift	
'Optimizing <i>Chlamydia trachomatis</i> and <i>Treponema pallidum</i> diagnostics <i>L. van Dommelen</i>	161
Verenigingsnieuws	
Abstracts Najaarsvergadering NVMM / VIZ 2013	162
Boekrecensies	
Moleculaire diagnostiek, red. dr. E. van Pelt-Verkuil en dr. W.B. van Leeuwen <i>R. te Witt</i>	167
Atlas of Human Infectious Diseases, red. H. Wertheim, P. Horby en J. Woodall <i>G.I. Andriess</i>	168
Cursusaankondiging	169
Promoties en oraties	169
Agenda	170

Toelichting bij coverbeeld: Links Columbus die in 1492 Amerika 'ontdekte' met de Pinta, de Nina en de Santa Maria, en vervolgens syfilis mee terugnam naar Europa. Rechts de 'denguemug'.

Omslag: Loes van Damme (l.h.vandamme@erasmusmc.nl) en Hans den Boer (j.denboer@erasmusmc.nl)
Erasmus MC, Afdeling Medische Microbiologie & Infectieziekten,
Postbus 2040, 3000 CA, Rotterdam.

VAN DE REDACTIE

Met trots en veel plezier schrijf ik dit redactioneel commentaar. Trots, omdat het weer is gelukt een mooi nummer uit te geven waarin het tweede deel van het thema ‘serologie’ centraal staat. Met veel plezier omdat de redactie is versterkt met twee nieuwe leden, Bob Meek, medisch immunoloog in opleiding in het St. Antonius Ziekenhuis te Nieuwegein, en René te Witt, moleculair bioloog in het Erasmus MC te Rotterdam. Ze stellen zich hierna persoonlijk aan u voor.

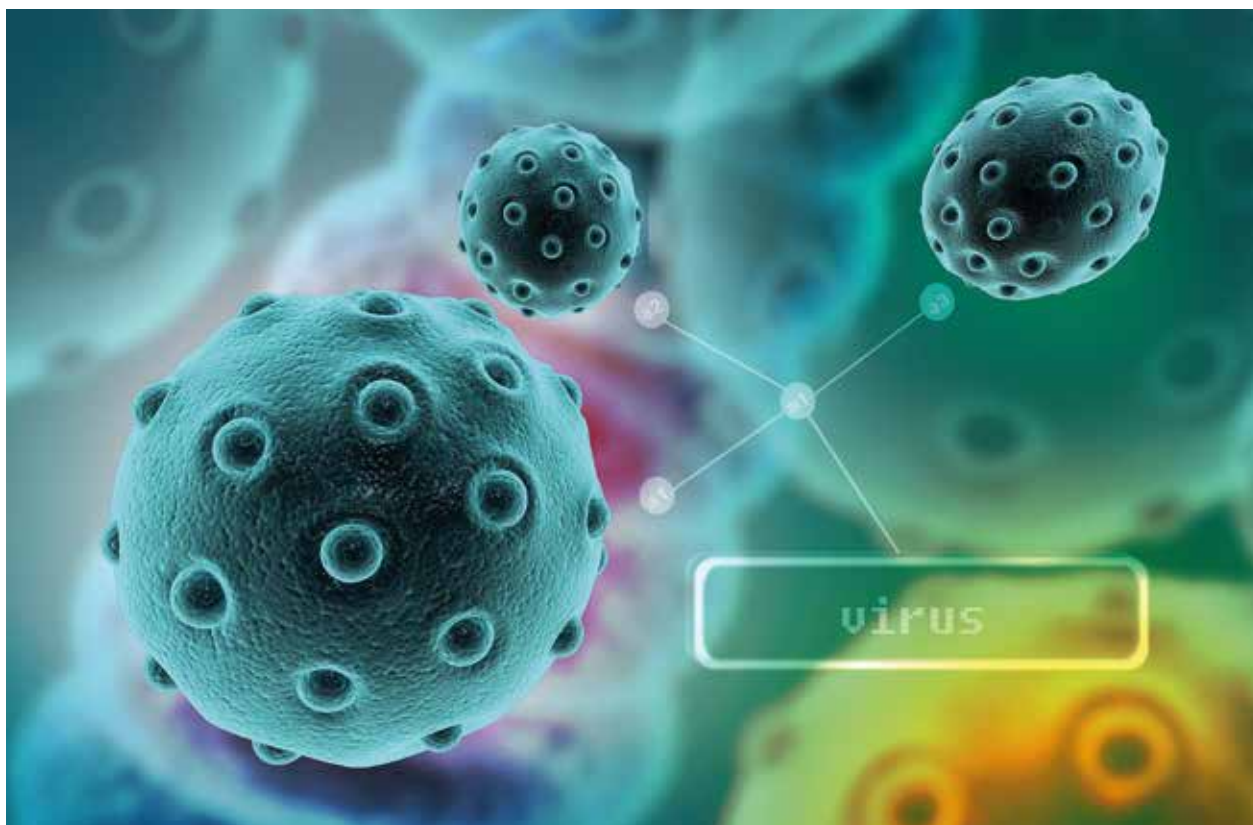
De jaren 1890-1906 worden wel de gouden ontdekkingsjaren van de serologie genoemd. Zo ontdekten Emil von Behring en zijn medewerker Shibasaburo Kitasato in 1890 een serum tegen difterie en tetanus. Behring won hiermee als eerste de Nobelprijs voor de Fysiologie of Geneeskunde. Andere bekende personen zijn onder meer Karl Landsteiner, de ontdekker van de bloedgroepen (1901) en Jules Bordet, de ontdekker van complement (1901). Uit het werk van Bordet kwam in 1906 de Wassermannreactie voort, ontwikkeld door de bacterioloog August von Wassermann. De Wassermannreactie is een complementbindingsreactie voor de diagnose van syfilis. De diagnostiek naar syfilis heeft zich in de loop der jaren uitgebreid met verschillende andere serologische testen. In het artikel van Wim Ang wordt een mooi overzicht gegeven

over de ins en outs rond deze serologische testen. Het blijkt dat infectieziektenserologie lang niet altijd eenvoudig is. Dit komt ook naar voren in het stuk van Stelma en collega's. Zij onderzochten de diagnostische prestaties van verschillende point-of-care testen voor het aantonen van een denguevirusinfectie. Zowel de humorale dynamiek als de sterke kruisreactiviteit in de IgG-serologie bemoeilijken de diagnostiek van flavivirusinfecties, en acute dengue-infecties in het bijzonder.

Naast de serologieartikelen staan in dit nummer van het *Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie* twee ‘epidemie’-verslagen centraal. De Jong en collega's geven een overzicht van de influenza-epidemie 2012-2013, die de langst durende, zei het mild verlopen, influenza-epidemie in de afgelopen 25 jaar was. Dorigo-Zetsma en collega's doen verslag van de mazelenepidemie en beschrijven daarnaast het eradicatieprogramma en het advies omtrent mazelen in de gezondheidszorg.

Naast net genoemde artikelen passeren in dit nummer van het NTMM meer zeer interessante onderwerpen de revue. Mij rest dan ook niet anders dan u veel leesplezier toe te wensen!

Esther Heikens



Nieuwe redactieleden stellen zich voor: Bob Meek (links) en René te Witt (rechts)



Mijn naam is Bob Meek, immunoloog. Sinds een jaar combineer ik onderzoek en opleiding tot medisch immunoloog op de afdeling Medische Microbiologie & Immunologie in het St. Antonius Ziekenhuis te Nieuwegein, waar we in goede harmonie diagnostiek bedrijven en onderzoek doen naar pathogenen die via de mucosa met de gastheer een interactie aangaan, met name de pneumokok.

Toen NTMM-redactielid Jan Kaan met het voorstel kwam om deel te nemen als redactielid en ik constateerde dat een immunoloog ontbrak in de huidige bezetting, leek het niet meer dan logisch om er mee in te stemmen. Mijn interesse in de immunologie heeft me de afgelopen jaren in verschillende werkomgevingen vele facetten van deze discipline leren kennen, met bijzondere interesse in mucosale immunologie. Tijdens mijn eerste postdocstages heb ik onderzoek gedaan naar de wijze waarop het mucosaal immuunsysteem het evenwicht bewaart tussen de massacommensalen in het lumen van de darm. Daarna heb ik mijn terrein verlegd naar toegepast onderzoek naar het design en de effectiviteit van vaccins tegen pathogenen die stelselmatig via de mucosa het evenwicht verstoren.

Als redactielid en immunoloog hoop en denk ik bij het NTMM het noodzakelijke, natuurlijke evenwicht te kunnen brengen, hierbij actief gesteund door het College van Medisch Immunologen. Het streven is de lijn voort te zetten die recentelijk is ingezet door Ger Rijkers en Arend Jan van Houte met artikelen met duidelijke (mucosaal) immunologische toetsen. Naast bovengenoemde activiteiten en voornemens houd ik mijn eigen balans op peil met lange afstanden hardlopen en zeer regelmatige bezoeken aan diverse rocktempels.

Ik ben geboren op 16 december 1975 in het Ikazia Ziekenhuis te Rotterdam. Opgegroeid in Spijkenisse, maar vanaf 2000 weer woonachtig in Rotterdam. Na negen jaar als medisch-microbiologisch analist werkzaam te zijn geweest in het Sint Franciscus Gasthuis, ben ik in 2007 overgestapt naar het Erasmus MC, om hier te starten met promotieonderzoek. Dit resulteerde in januari 2012 tot mijn proefschrift *Clinical Microbiological Diagnostic 2.0* (te downloaden via www.e-pubs.nl) en bijbehorend PhD. Momenteel ben ik in opleiding tot MMM en werkzaam als moleculair microbioloog op de afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten van het Erasmus MC. Hier ben ik verantwoordelijk voor de dagelijkse routine moleculaire diagnostiek. Daarnaast houd ik me bezig met (innovatie van) (moleculaire) diagnostiek en het typeren van bacteriën.

Tijdens een van de WMDI-vergaderingen werd gevraagd of er iemand interesse had om deel uit te gaan maken van de redactie van het NTMM. De redactie zocht een vervanger voor Cees Vink, die inmiddels afscheid heeft genomen van de redactie. Ik heb me aangemeld en kort met Cees gesproken. Na mijn voordracht ben ik geaccepteerd als nieuw redactielid. Ik denk dat ik door mijn kijk op en kennis van moleculaire diagnostiek een aanvulling kan zijn op het redactionele team.

Ik ben getrouwd en heb drie hele lieve dochters van 6, 3 en 2 jaar. Belangrijkste kenmerken (of hobby's): espresso, chocolade, wijn, fotografie, wielrennen, hardlopen, korfbal, Nintendo, biologie.

Overpeinzingen van een terugtredend microbioloog

P.H. Rothbarth

Mijn eerste vakantiebaantje was verpleeghulp, ik spreek over augustus 1967. In het ziekenhuis werd ik gekoppeld aan een verpleegkundige die met mij de patiënten afding. Bij een jongen van 14 zei ze: "Dit is Kees, net opgenomen met een onbegrepen totale verlamming van de gezichtsspieren. We moeten goed op hem letten, want zijn ademhalingsspieren zouden ook verlamd kunnen raken". Kees kreeg ongeveer een keer per week een lumbaalpunctie, waarbij het eiwit was verhoogd. Dat betekende weer bedrust en dus een bedorven vakantie. De neuroloog sprak van een vermoedelijke virale meningitis, maar niemand wist er eigenlijk iets van. Toen ik na vier weken ophield, lag Kees er nog steeds. Later werd hij ontslagen, de verlamming was spontaan genezen. Vijftien jaar later werd de link met borreliosis gelegd en hadden wij het over Lyme. Met deze ziektegeschiedenis wil ik maar zeggen dat ons vak allerm minst saai of statisch is. Omstreeks 1980 kon je geluiden horen dat de infectieziekten snel tot het verleden zouden gaan behoren; in dat jaar verschenen de eerste publicaties over aids. Hierna zijn nog veel meer nieuwe micro-organismen en andere overdraagbare agentia beschreven, zoals de prions, de virussen hepatitis C, D, E, Bocavirus, hiv, humaan metapneumovirus, de herpesvirussen 6 t/m 9 en bacteriën als *helicobacter pylori* en veel BMRO's.

Ik heb meer het gevoel dat wij ons in een doorgaande trein bevinden die soms allerlei onverwachte obstakels tegenkomt. Zo heb ik de laatste veertig jaar verschillende interventies meegemaakt bij patiënten met een gramnegatieve sepsis die een hoge mortaliteit kent. Hierbij zijn de volgende interventies toegepast: wisseltransfusies bij neonaten (1977), hoge hoeveelheden steroïden (1980), antitoxine-antilichamen (1988) en geactiveerd proteïne C

(2000). Bij alle interventies werd in het begin een geweldig positief effect gezien die bij goede randomisatie echter geen stand hield. Tot nog toe is er voor de gramnegatieve sepsis nog geen 'magic bullet'.

In de Griekse mythologie komt de reus Typhoon voor die honderd vuurspugende koppen had en door de Titanen op Zeus werd afgestuurd. Sloeg je een kop af, dan groeiden er direct weer twee nieuwe aan, zodat de oplossing verder weg dan ooit lag.

Nu wil ik niet zeggen dat dit scenario zich uitsluitend voordoet in het vakgebied van de infectieziekten, maar definitieve oplossingen zijn schaarser en moeilijker dan eerder werd gedacht. Ik heb in dezen vaak twijfels bij collega's die bij een bepaalde mijlpaal juichen dat het probleem binnen vijf jaar zal zijn overwonnen (niet alleen collega's in de microbiologie!)

Er zijn dus nog veel uitdagingen in de microbiologie en de klinische infectiologie, waarbij ik als meest belangrijke zie het ontwikkelen van nieuwe klassen antibiotica (bijvoorbeeld tegen de metallo- β -lactamaseproducers) en goede niet-toxische antivirale middelen.

De Transmissieroute zal worden voortgezet door dr. A. Mulder, arts-microbioloog in het Laboratorium voor Microbiologie Twente en Achterhoek.

Dr. P.H. (Flip) Rothbarth, tot oktober arts-microbioloog in het Rijnland Ziekenhuis te Leiderdorp, e-mail: rothbarth@telfort.nl

Mazelen: de epidemie en het eradicatieprogramma

J.W. Dorigo-Zetsma, R. van Binnendijk

Trefwoorden

Mazelen, epidemie, eradicatieprogramma

Mazelen in Nederland

Na de laatste grote mazelenepidemie in Nederland in 1999-2000, zal ook het jaar 2013 de boeken ingaan als mazelenjaar. Mazelen is een meldingsplichtige infectieziekte volgens de Wet Publieke Gezondheid en in Nederland varen we voor wat betreft het voorkomen van mazelen vooral op de meldingen die door artsen en laboratoria aan de GGD worden gedaan. Tijdens de vorige epidemie werden meer dan 3.200 mazelenpatiënten, inclusief drie sterfgevallen, geregistreerd. De meeste gevallen van mazelen (meer dan 95%) deden zich toen, net als in de huidige epidemie, voor onder kinderen die om religieuze redenen niet waren gevaccineerd.

Sinds het invoeren van de mazelenvaccinatie in het Rijksvaccinatieprogramma in 1976 is de incidentie van mazelen in Nederland drastisch gedaald (*figuur 1*). De serie van twee vaccinaties (op de leeftijd van 14 maanden en 9 jaar) leidt bij meer dan 95% van de gevaccineerden tot een beschermende antistofrespons. Niet-immune personen worden bij een hoge vaccinatiegraad in de bevolking (voor mazelen meer dan 95%) beschermd door de zogenaamde kudde-immuniteit. In bepaalde bevolkingsgroepen wordt deze vaccinatiegraad echter niet bereikt, zoals onder de orthodox-protestanten (Bible Belt), onder antroposofen of 'kritische prikkers'. Binnen deze gemeenschappen, zeker die met een sterke sociale cohesie, kan het virus zich snel verspreiden, zoals we nu zien onder de orthodox-protestanten.

Inmiddels (eind oktober 2013) zijn er ruim 2100 patiënten met mazelen, opgelopen in Nederland, gemeld aan de GGD, waaronder 132 ziekenhuisopnames. Het daadwerkelijk aantal ligt vele malen hoger, vooral omdat de meeste kinderen met mazelen niet naar de huisarts gaan. Ongeveer 60% van mazelengevallen doet zich voor bij kinderen (4-12 jr.) en 95% van de gemelde mazelenpatiënten is ongevaccineerd.

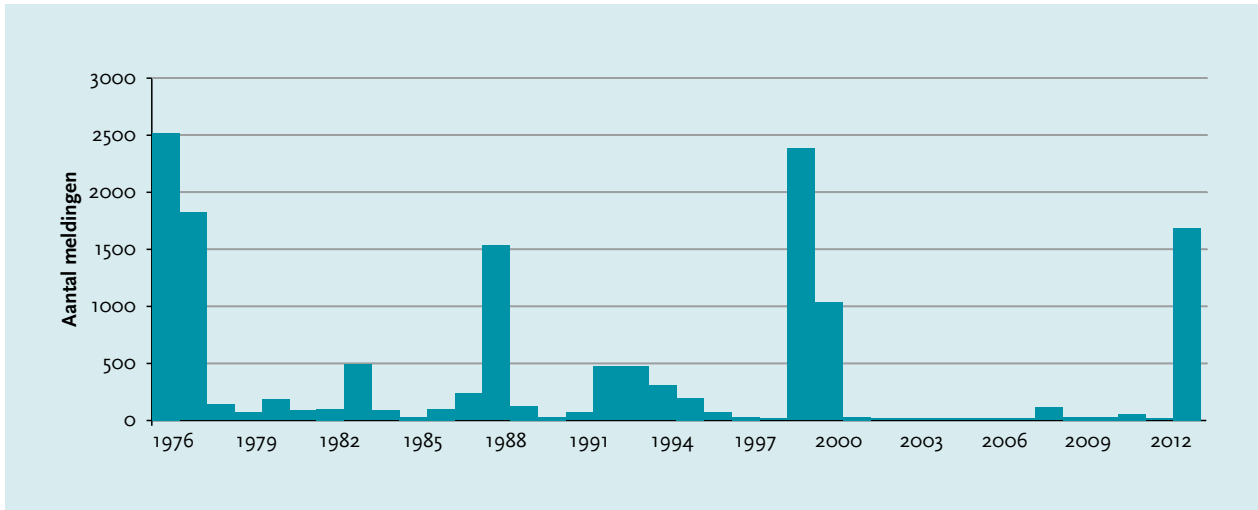
Mazelen in Europa en het eradicatieprogramma

Nederland is niet het enige land in Europa waar mazelen voorkomt. Hoewel de incidentie van mazelen in Europa door routinevaccinatie drastisch is gedaald sinds eind jaren 90, hebben zich de afgelopen drie jaar weer grote uitbraken voorgedaan (in 2010 in Bulgarije, in 2011 in Frankrijk). Ook in Italië, Roemenië, Spanje en Duitsland deden zich epidemieën voor. Een suboptimale vaccinatiegraad in de diverse landen ligt hieraan ten grondslag.¹ De WHO-EU-regio heeft onlangs de doelstelling voor het elimineren van mazelentransmissie in Europa bijgesteld naar het jaar 2015.²

In het eradicatieprogramma zijn de vaccinatie en surveillance de belangrijkste pijlers. Betrouwbare nationale surveillance van mazelen bestaat, naast het monitoren van de vaccinatiegraad en de immuunstatus van de bevolking, ook uit het correct diagnosticeren van mazelen en genotyperen van het virus. Bij deze laatste onderdelen speelt het laboratorium een belangrijke rol. In samenwerking tussen het IDS-RIVM (referentielaboratorium voor mazelen en rodehond) en de COM (commissie openbare gezondheidszorg en microbiologie) is voor de laboratoriumsurveillance van mazelengevallen een laboratoriumresponsplan opgesteld: hierin wordt onder meer beschreven hoe de diagnostiek voor mazelen in Nederland wordt uitgevoerd, welke testen beschikbaar zijn en of de capaciteit volstaat (opschaling ten tijde van een epidemie). Naarmate mazelen minder vaak voorkomt en daardoor ook minder goed wordt herkend, neemt de laboratoriumbevestiging een steeds belangrijker plaats in. Parallel aan de surveillance voor acute slappe verlamming (AFP: acute flaccid paralysis) in het polio-eradicatieprogramma,

Dr. R van Binnendijk, viroloog, IDS-RIVM.
Correspondentieadres: dr. J.W. Dorigo-Zetsma, arts-microbioloog,
Tergooi, Van Riebeeckweg 212, 1213 XZ Hilversum, COM (commissie
openbare gezondheidszorg en microbiologie), Clb-RIVM, Postbus 1,
3720 BA Biltoven, e-mail: wdorigo@tergooi.nl

Figuur 1. Meldingen van mazelen in Nederland 1976-2013*.



*Meldingen tot 2 oktober 2013

wordt voor het mazelenradicatieprogramma de focus gelegd op surveillance van koortsende 'vlekjesziekten'. Dat dit een stuk lastiger is dan de AFP-surveillance laat zich raden: er zijn talloze (kinder)ziekten die met huiduitslag gepaard gaan. Daarbij is het uitvoeren van diagnostiek voor koortsende ziekte met huiduitslag bij kinderen door de huisarts, maar ook door kinderartsen zeker niet gebruikelijk. Het registreren van de zogeheten 'discarded cases' (patiënten met een huiduitslag waarbij wel is getest voor mazelen, maar die vervolgens negatief bleken) is echter een indicator in het verificatieproces voor de eliminatie. Laboratoria hebben wel gegevens over deze 'discarded cases' (mazelen IgM/PCR getest, maar negatief gebleken); deze informatie wordt echter niet systematisch vastgelegd. Om buiten een epidemie toch zicht te houden op (onverwacht) voorkomen van mazelen (en rubella) is in een samenwerking tussen IDS-RIVM en GGD-en een algoritme voor vlekjesziekten tot stand gebracht. Hierbij wordt voor genoemde surveillancedoeleinden bij uitbraken van vlekjesziekten in bijvoorbeeld een kinderdagverblijf of op een school in vingerprikbloed en speekselmonsters diagnostiek uitgevoerd voor mazelen, rubella en het humane parvoB19 virus. Deze laagdrempelige surveillance dient zowel de bevestiging van (onverwachte) mazelen (en rubella) als de registratie van 'discarded cases', zij het dat de focus hierbij vooral op jonge kinderen ligt.

Het microbiologisch laboratorium speelt ook een belangrijke rol bij de detectie van het mazelenvirus (in keeluitstrijk of urine), om dit vervolgens te kunnen typeren (nationaal referentielaboratorium). Door middel van genotypering kunnen mogelijke bronnen worden getraceerd en kan de verspreiding van het virus (geïmporteerd, gerelateerd aan import of endemisch voorkomend) in kaart worden gebracht. De moleculaire typeringsdata zijn

in het eliminatieprogramma noodzakelijk om te kunnen vaststellen of er sprake is van voortgaande mazelen-virustransmissie na introductie of dat de transmissie van endemisch voorkomend virus is gestopt.

De huidige epidemie in Nederland, die zich sinds eind mei verspreidt onder niet-gevaccineerde orthodox-protestanten wordt veroorzaakt door mazelenvirus genotype D8. Genotype D8 kent momenteel ten minste twee subtypes die zeer prevalent circuleren in verschillende landen binnen Europa. Eén hiervan is de veroorzaker van de huidige mazelenepidemie en deze blijkt genetisch identiek te zijn aan clusters van mazelen begin dit jaar in een huisartsenpraktijk en een ziekenhuis in de omgeving van Den Haag. Er is echter geen epidemiologisch verband vastgesteld tussen de genotype D8-uitbraken in Den Haag en de huidige landelijke epidemie. Tussendoor zijn enkele mazelenclusters gemeld die zijn veroorzaakt door weer andere (D8-) subtypes. De typeringsresultaten geven met name aan dat er in 2013 frequent import van mazelen vanuit Europa naar Nederland is geweest.

Mazelen in de gezondheidszorg

Omdat mazelen, zeker aan het begin van de epidemie, slecht werd herkend, werden patiënten in het ziekenhuis opgenomen zonder adequate isolatie- en beschermingsmaatregelen. Mazelen is een van de meest besmettelijke infectieziekten, wordt via druppels overgebracht en is besmettelijk van vier dagen voor tot vier dagen na het uitbreken van het exantheem. In een ziekenhuis waar niet-immune kinderen of immuungecompromiteerde patiënten verblijven, moeten patiënten met een verdenking op mazelen van meet af aan adequaat worden geïsoleerd worden (strikte isolatie met gebruik van FFP2-maskers). Daarnaast mogen gezondheidszorgmedewerkers zelf

geen bron voor infectie worden of zijn. Tijdens diverse mazelenepidemieën in Europa en de Verenigde Staten zijn meer of minder omvangrijke uitbraken in ziekenhuizen ten gevolge van nosocomiale transmissie beschreven.^{3,4} Nosocomiale mazelen-transmissie is geassocieerd met een hoge mortaliteit en morbiditeit en het is dus van groot belang om mazeleninfecties opgelopen tijdens ziekenhuisverblijf te voorkomen.⁴ BMR-vaccinatie geeft over het algemeen een goede bescherming tegen mazelen. Er zijn bij volledig gevaccineerde gezondheidszorgmedewerkers symptomatische mazeleninfecties beschreven, maar het is onduidelijk hoe besmettelijk deze personen zijn: transmissie is niet aangetoond, maar ook niet uitgesloten. Kort na de aanvang van de mazelenepidemie is door het CIb-RIVM een advies opgesteld over mazelenbescherming bij gezondheidszorgmedewerkers, met name gericht op degenen die op zogeheten risicoafdelingen werken.⁵ In dit advies worden gezondheidszorgmedewerkers ingedeeld in drie groepen: voldoende beschermd, matig beschermd en onbeschermd. De indeling is gebaseerd op leeftijd en anamnese in relatie tot de introductie van landelijke vaccinatie in Nederland vanaf 1976; er dient uitgevraagd te worden of iemand mazelen heeft doorgemaakt, dan wel volledig en adequaat is gevaccineerd. Uit onderzoek is echter gebleken dat een aanzienlijk deel van gezondheidszorgmedewerkers niet op de hoogte is van zijn mazelen-immuunstatus.³ Bij deze mensen is de leeftijd dan een belangrijke indicator. Personen geboren vanaf 1965 van wie de immunusstatus niet te achterhalen is, worden als onbeschermd beschouwd: aan hen moet vaccinatie of seroscreening worden aangeboden. In het geval wordt gekozen voor serologische screening, moet rekening worden gehouden met de gebruikte test- en afkapwaarde voor beschermende antistoffen. In een vergelijking van diverse commerciële mazelen-IgG-testen met de gouden standaard van plaquereductie-neutralisatie (PRN)-test, bleken de commerciële testen onderling goed vergelijkbaar, een goede positief-voorspellende waarde te hebben, maar een iets lagere negatief-voorspellende waarde ten opzichte van de PRNT.⁵ Bij mensen die negatief testen in een commerciële mazelen IgG-test, kunnen dus alsnog neutraliserende antistoffen aanwezig zijn. Voor de praktische uitvoerbaarheid van het advies om de mazelenbescherming van gezondheidszorgmedewerkers in kaart en op peil te brengen en vanwege de grote consequenties van potentiële mazelen-transmissie in ziekenhuizen, zouden deze ziekenhuismedewerkers als niet-immuun moeten worden beschouwd en alsnog moeten worden ge(re)vaccineerd.

Toekomst

In Noord- en Zuid-Amerika is de endemische mazelen-transmissie sinds 2002 onderbroken. Na de eliminatie deden zich wel importgevallen en geassocieerde uitbraken van mazelen voor, maar de incidentie bleef lager dan

1 geval per 1.000.000 inwoners.⁶ Zolang zich in Europa mazelenepidemieën blijven voordoen en in Nederland de vaccinatiegraad niet boven de 95% komt in alle geografische gebieden en voor alle bevolkingsgroepen, zullen zich ook in Nederland in de toekomst nog uitbraken van mazelen blijven voordoen. Het is dus de vraag of we de nieuwe doelstelling van de WHO-EU mazelen te elimineren uit de EU-regio in het jaar 2015, ondanks de beschikbaarheid van een zeer effectief vaccin, gaan halen.

Referenties

1. Carrillo-Santisteve P and Lopalco PL. Measles still spreads in Europe: who is responsible for the failure to vaccinate? *Clin Microbiol Infect.* 2012; 18: 50-6.
2. WHO. Renewed commitment to elimination of measles and rubella and prevention of congenital rubella syndrome by 2015 and Sustained support for polio-free status in the WHO European Region. Resolution: Regional Committee for Europe 2010. Copenhagen, Denmark.
3. Botelho-Nevers E, Cassir N, Minodier P, et al. Measles among healthcare workers: a potential for nosocomial outbreaks. *Euro Surveill.* 2011;16(2):pii=19764. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19764>.
4. Chen SY, Anderson S, Kutty PK, Lugo F, McDonald M, Rota PA, et al. Health care-associated measles outbreak in the United States after an importation: challenges and economic impact. *J Inf Dis.* 2011;203:1517-25.
5. Advies bescherming tegen mazelen in de gezondheidszorg. Available online: http://www.rivm.nl/Documenten_en_publicaties/Professioneel_Praktisch/Richtlijnen/Infectieziekten/LCI_richtlijnen/LCI_richtlijn_Mazelen_morbili/Download/Advies_bescherming_tegen_mazelen_in_de_gezondheidszorg
6. Castillo-Solorzano CC, Ruiz Matus C, Flannery B, et al. The Americas: Paving the Road Toward Global Measles Eradication. *J Inf Dis.* 2011;204:S270-8.

De auteurs bedanken Susan Hahné, senior-epidemioloog CIb-RIVM, voor het becommentariëren van het manuscript en het aanleveren van de figuur.

Het influenzaseizoen 2012/2013 in Nederland: een milde maar langdurige epidemie

J.C. de Jong, G.A. Donker, A. Meijer, W. van der Hoek, M.M.A. de Lange, G.F. Rimmelzwaan, A.D.M.E. Osterhaus

Samenvatting

De influenza-epidemie van het seizoen 2012/2013 was in vergelijking met vorige epidemieën van grote omvang, gevarieerd van etiologie en vooral langdurig: 18 weken terwijl een gemiddelde epidemie acht weken aanhoudt. Aanvankelijk waren A(H1)pdmo9- en A(H3)-virussen dominant, later werden voornamelijk B/Yamagata/16/88-achtige virussen gedetecteerd. Bij geen van de vier circulerende virussen – A(H1)pdmo9, A(H3), B/Victoria/2/87 en B/Yamagata/16/88 - werd sinds het seizoen 2009/2010 significante antigene drift geconstateerd. De vaccinstammen kwamen goed overeen met de epidemische A(H1)pdmo9-stammen maar minder goed met de B/Yamagata/16/88- en onvoldoende met de A(H3)-stammen. Voor het seizoen 2013/2014 op het noordelijk halfrond heeft de WHO vaccinstammen aanbevolen gelijkend op:

- voor A(H1N1)pdmo9: A/California/7/2009;
- voor A(H3N2): A/Victoria/361/2011, in de praktijk A/Texas/50/2012;
- voor B: B/Massachusetts/2/2012, lijn B/Yamagata/16/88.

Geen van de 226 geanalyseerde influenzavirussen uit de reguliere surveillance vertoonde kenmerken van verminderde gevoeligheid voor antivirale middelen. Twee ziekenhuizen meldden een patiënt met een A(H1N1)pdmo9-virusinfectie, die tijdens behandeling met oseltamivir resistentie tegen dit middel ontwikkelde.

Trefwoorden

Influenza, antigene drift, epidemiologie, vaccin, antivirale middelen

Influenzavirussen

Influenzavirussen worden naar antigene reactiviteit van de interne eiwitten onderverdeeld in de typen A, B en C. Infecties met type C leiden vrijwel nooit tot medische interventie. Binnen type A worden subtypen onderscheiden die verschillen in de antigene reactiviteit van de twee immunogene oppervlakte-eiwitten hemagglutinine (HA, 18 subtypen in vogels en vleermuizen) en neuraminidase (N, 11 subtypen in vogels en vleermuizen). Thans circuleren er in de humane populatie de in 1968 respectievelijk 2009 pandemisch verschenen subtypen

A(H3N2) en A(H1N1). De laatste wordt officieel met A(H1N1)pdmo9 aangeduid. Binnen type B komen geen subtypen voor. Sinds de periode rond 1980 circuleren er twee fylogenetische lijnen, genaamd B/Victoria/2/87-lijn en B/Yamagata/16/88-lijn, die geleidelijk genetisch en antigenetisch uit elkaar zijn gegroeid.¹

Alle vier genoemde soorten influenzavirus ondergaan regelmatig kleine antigene veranderingen ('antigene drift') die kunnen worden gemeten met de hemagglutinatieremmingstest (HAR).^{1,2} Het huidige in Nederland gebruikte influenzavaccin bevat geïnactiveerd virus van de subtypen A(H1N1)pdmo9, A(H3N2) en één van de twee B-lijnen en wordt jaarlijks aangepast aan de antigene veranderingen. De antivirale middelen oseltamivir en zanamivir (neuraminidaseremmers) beschermen preventief en therapeutisch tegen influenza A en B, de M2-ionkanaalblockers amantadine en rimantadine alleen tegen type A.³

Influenzasurveillance

Doel van de influenzasurveillance is om ten behoeve van regionaal beleid, artsen en het vaccinatieprogramma van de WHO het begin, de ernst en het einde van de griepiepidemieën te bepalen en tevens de oorzakelijke virussen te detecteren en te karakteriseren op antigene reactiviteit en antivirale gevoeligheid.

In Nederland wordt de geïntegreerde epidemiologisch-virologische influenzasurveillance uitgevoerd door NIVEL, het Nederlands Instituut voor Onderzoek van de Gezondheidszorg te Utrecht en het door de WHO erkende Nationaal Influenza Centrum (NIC), dat een samen-

Prof. dr. G.F. Rimmelzwaan, prof. dr. A.D.M.E. Osterhaus, virologen, Erasmus MC, afdeling Viroscience, Nationaal Influenza Centrum, Rotterdam, dr. G.A. Donker, huisarts-epidemioloog, NIVEL, Nederlands Instituut voor Onderzoek van de Gezondheidszorg, afdeling CMR-peilstations Nederland, Utrecht, dr. A. Meijer, viroloog, RIVM, Centrum Infectieziektebestrijding, Bilthoven, dr. W. van der Hoek, arts-epidemioloog, RIVM, Centrum Infectieziektebestrijding, Bilthoven.
Correspondentieadres: dr. J.C. de Jong, Erasmus MC, Faculteit Geneeskunde, afdeling Viroscience, Nationaal Influenza Centrum, Postbus 2040, 3000 CA Rotterdam, e-mail: jong7662@planet.nl.

werkingsverband is van het Erasmus Medisch Centrum (NIC-Erasmus MC) te Rotterdam en het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (NIC-RIVM) te Bilthoven.^{2,4,5} De 41 huisartspraktijken (peilstations) participeren in NIVEL Zorgregistraties eerste lijn registreren wekelijks het aantal patiënten dat zich meldt met een influenza-achtig ziektebeeld (IAZ).^{2,4} Het NIVEL berekent daaruit een landelijke IAZ-incidentie. Tevens worden wekelijks steekproefsgewijs genomen klinische monsters van patiënten met IAZ of een andere acute respiratoire infectie uit dit netwerk onderzocht op influenzavirus door het NIC-RIVM met de real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). Daarnaast ontvangt het NIC-Erasmus MC van diagnostische ziekenhuislaboratoria influenzavirussen.²

Alle verkregen isolaten worden in het NIC-Erasmus MC nader geanalyseerd met de HAR.² Daarnaast worden de virussen uit de peilstations en steekproefsgewijs ook de virussen uit de diagnostische laboratoria onderzocht op gevoeligheid voor bovengenoemde antivirale middelen in respectievelijk NIC-RIVM en NIC-Erasmus MC.^{2,6} Ziekenhuizen melden vrijwillig gevallen van antivirale resistentie bij het NIC-RIVM voor nader onderzoek.

Wekelijks worden de IAZ-incidentie en de virologische resultaten doorgegeven aan het European Centre for Disease Control and Prevention (ECDC)-kantoor in Stockholm, dat deze informatie verwerkt en doorstuurt naar de centra van de WHO in Kopenhagen (Europees regionaal) en Genève (mondiaal). Tevens wordt regelmatig een selectie van de virusisolaten naar het WHO Collaborating Centre in Londen verzonden. Jaarlijks brengt de WHO in februari en september advies uit over de vaccinamenstelling voor het daaropvolgende influenzaseizoen op het noordelijk respectievelijk zuidelijk halfrond.⁷

Influenzavaccineffectiviteit (VE)

De VE wordt door het RIVM met een zogeheten test-negatieve casecontrole methode ingeschat met gegevens van patiënten uit het peilstationnetwerk. Hierbij zijn de cases gedefinieerd als influenzaviruspositieve IAZ-patiënten met indicatie voor vaccinatie, en de controles als influenzavirusnegatieve IAZ-patiënten. Oddsratio's (OR) worden berekend door het aantal gevaccineerden onder cases en controles te vergelijken. De VE wordt per virus(sub)type berekend als $(1 - OR[\text{gevaccineerd/niet-gevaccineerd}]) \times 100\%$. Met logistische regressie wordt gecorrigeerd voor versturende factoren zoals leeftijd en onderliggende ziekten.

Resultaten en discussie

De influenza-epidemie van het seizoen 2012/2013

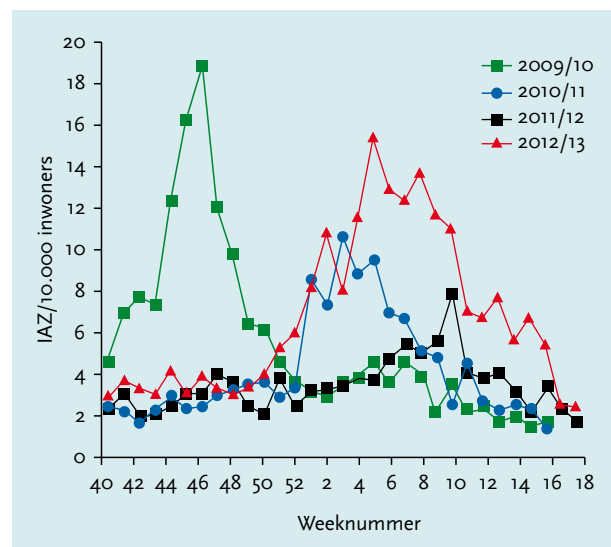
De afgelopen influenza-epidemie was mild ('mild' wil zeggen maximaal 5,1 tot 20 IAZ per 10.000 inwoners),

maar uitzonderlijk langdurig. In Nederland is er een griep-epidemie wanneer de IAZ-incidentie twee weken achtereen de drempelwaarde van 5,1 per 10.000 inwoners overschrijdt en er griepvirussen in de neus- en keelmonsters van de peilstations worden gevonden.⁴ Een werkgroep van het ECDC heeft de drempelwaarde berekend uit de IAZ-incidenties in de afgelopen tien griepseizoenen buiten de epidemische perioden. Volgens deze criteria begon in het seizoen 2012/2013 in Nederland de griep-epidemie in week 51 en eindigde zij in week 16 (figuur 1). De epidemie hield dus 18 weken aan, terwijl in Nederland de griep-epidemieën gemiddeld acht weken duren. Bij de peilstations lag de piek in week 5 met 15 IAZ per 10.000 inwoners; toen was 73% van de peilstationmonsters influenzaviruspositief.

Waarom duurde de griep-epidemie dit seizoen zo lang?

De afgelopen epidemie was de langste van de afgelopen 25 jaar. De oorzaak lag mogelijk in de lange koude- en droogteperiode in dit seizoen. De maand maart was met gemiddeld 2,5°C sinds 1987 niet zo koud en met een relatieve vochtigheid (RV) rond 20% sinds 1955 niet zo droog als in 2013 (gegevens KNMI). In aerosolen met een RV < 50% is het virus stabiel, terwijl bij RV > 50% de virusinfectiviteit snel afneemt.⁸⁻⁹ Sommige studies laten zien dat bij RV > 70% het virus weer stabiel is.⁹ Binnenshuis daalt door verwarming 's winters de luchtvochtigheid onder de 50%.⁸ Door bevochtigingssysteem wordt tegenwoordig in vele gebouwen weliswaar de RV opgevoerd naar comfortabele waarden (30 tot 60%) maar uit een aantal publicaties blijkt dat in de praktijk de RV in

Figuur 1. Klinische influenza-activiteit in Nederland in de seizoenen 2009/2010 (pandemisch seizoen), 2010/2011, 2011/2012 en 2012/2013 (zwarte lijn) weergegeven als het wekelijkse aantal patiënten met een influenza-achtig ziektebeeld (IAZ) per 10.000 inwoners. De gegevens werden verzameld door NIVEL Zorgregistraties eerste lijn.⁴



de winter meestal onder de 50% blijft, dus in het stabiliteitsgebied van het influenzavirus. De oorzaken van de mondiale seizoensgebondenheid van influenza blijven onopgehelderd maar de consensus is dat de variaties van de RV een plausible verklaring kunnen geven voor de winterprevalentie van influenza in gematigde klimaatgebieden en misschien ook voor de voorkeur van influenza voor natte perioden in de tropen.¹⁰

Overzicht van de gedetecteerde influenzavirussen van het seizoen 2012/2013

Gedurende het seizoen 2012/2013 werd door het NIC het uitzonderlijk hoge aantal van 2711 influenzavirussen ontvangen, afkomstig van peilstations en diagnostische laboratoria (figuur 2). Zelfs in de pandemie van 2009 kregen we minder inzendingen. De meeste hiervan konden niet worden gekweekt (tabel 1). Redenen hiervoor waren een te laag virusgehalte bij de monsterafname, inactivering na de monsterafname of verminderde affiniteit van het virus voor de virusreceptoren op de gastheercellen bij subtype A(H3N2).¹¹

Het succespercentage van de viruskweek daalt bij afnemende hoeveelheden virus in het monster en is gering boven een Ct-waarde van 28 in de detectie RT-PCR.

De resultaten met de monsters uit peilstations, die representatiever zijn voor griep in de algemene bevolking dan de monsters uit diagnostische laboratoria, staan in tabel 2. De verhoudingen tussen de vier virussoorten

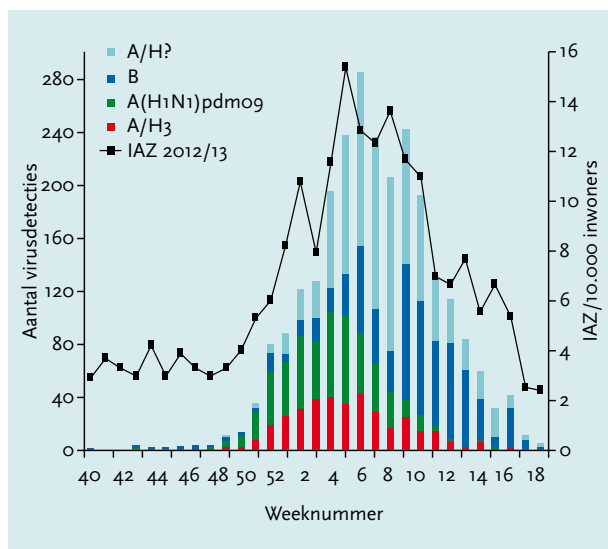
Tabel 1. Resultaten van de viruskweek bij monsters van NIVEL Zorgregistraties eerste lijn (peilstations, NIC-RIVM) en monsters ontvangen uit diagnostische laboratoria (NIC-Erasmus MC).

	Peilstations	Diagnostische laboratoria
(Sub)type	Kweekbaar (%)	Kweekbaar (%)
A(H1)pdm09	24 van 91 (26%)	272 van 645 (42%)
A(H3)	43 van 88 (49%)	146 van 1043 (14%)
B	16 van 184 (9%)	207 van 634 (33%)
<i>Totaal</i>	<i>83 van 363 (23%)</i>	<i>625 van 2322 (27%)</i>

Tabel 2. Detecties in monsters van NIVEL Zorgregistraties eerste lijn door het NIC-RIVM en gerapporteerd door peilstationnetwerken uit 26 landen aan het European Centre for Disease Control and Prevention ECDC.¹²

Type A		Type B	
NIVEL: 189 (49%) ECDC: 7167 (47%)		NIVEL: 200 (51%) ECDC: 8197 (53%)	
Gesubtypeerd		Fylogenetische lijn bepaald	
A(H1)pdm09: NIVEL: 96 (51%) ECDC: 3961 (62%)	A(H3): NIVEL: 93 (49%) ECDC: 2407 (38%)	B/Victoria/2/87: NIVEL: 11 (6%) ECDC: 285 (10%)	B/Yamagata/16/88: NIVEL: 189 (94%) ECDC: 2703 (90%)

Figuur 2. Virusdetecties in het influenzaseizoen 2012/2013. Afgebeeld zijn de wekelijkse aantallen bij het NIC bekende influenzavirusinfecties, opgesplitst naar (sub)type. De aantallen zijn weergegeven als balken, af te lezen op de linker verticale as: A(H1): groen, A(H3): rood, B: blauw en type A waarvan het subtype niet is bepaald: ongekleurd. Tevens is het aantal IAZ per 10.000 inwoners per week weergegeven zoals geregistreerd door NIVEL Zorgregistraties eerste lijn: curve, af te lezen op de rechter verticale as.⁴



kwamen ongeveer overeen met die gerapporteerd door de peilstations van de Europese Unie (EU), behalve dat in Nederland subtype A(H1)pdm09 even vaak en in de EU significant vaker werd aangetroffen dan subtype A(H3).¹² De resultaten met monsters uit diagnostische ziekenhuislaboratoria, die representatiever zijn voor de ernstigere ziektebeelden, zijn weergegeven in tabel 3.

Invloed kweek op de antigene reactiviteit van influenzavirussen

Na vermeerdering van influenzavirussen in bebroede kippeneieren is dikwijls de antigene reactiviteit veranderd.¹³ Influenzavirussen die uitsluitend in zoogdiercelculturen zijn geïsoleerd en gepasseerd vertegenwoordigen beter de werkelijk circulerende virussen, omdat de nucleotidensequentie van het HA1-gen in vergelijking met eigekweekte virussen meer gelijk op die van het virus in het klinische monster.¹⁴ De HAR-activiteit van antisera bereid met virussen die een eipassage hebben ondergaan, waaronder de vaccinvirussen en bijna alle WHO-referentiestammen, wijkt daardoor vaak af van die van antisera bereid met virussen gekweekt in zoogdiercelcultuur, zoals alle Nederlandse isolaten. Om deze reden onderzoekt het NIC-Erasmus MC het vóórkomen van antigene drift met laatstgenoemde antisera. De vaccinvirussen moeten in eieren worden gekweekt vanwege de

Tabel 3. Detecties in monsters uit Nederlandse diagnostische laboratoria (NIC-Erasmus MC).

Type A: 1687 (73%)			Type B: 633 (27%)		
Gesubtypeerd: 686 (41%)		Niet gesubtypeerd: 1001 (59%)	Fylogenetische lijn bepaald: 228 (36%)		Onbepaald: 405 (64%)
A(H1): 409 (60%) 639 (38%) ¹⁾	A(H3): 277 (40%) 1048 (62%) ¹⁾	In 74 monsters: A(H1): 17 A(H3): 57	B/Victoria/2/87: 14 (6%)	B/Yamagata/16/88: 214 (94%)	

¹⁾ Aantallen A(H1)- en A(H3)-virussen gecorrigeerd voor de verhouding A(H1)pdm09:A(H3) in een steekproef van 74 niet-gesubtypeerde A-virussen, zie derde kolom.

hogere virusopbrengst vergeleken met zoogdiercelculturen. De WHO-referentiestammen moeten hiermee corresponderen en ook in eieren worden gepasseerd.

Karakterisering influenza A(H1)pdm09-virussen

De meerderheid van de A(H1)pdm09-virussen uit seizoen 2012/2013 reageerde ongeveer hetzelfde als de Nederlandse isolaten verkregen in en na de pandemie van 2009, de WHO-vaccinreferentiestam A/California/4/2009 en de vaccinstam X-181 gebruikt in het seizoen 2012/2013 (tabel 4, kader). Drie A(H1)pdm09-virusisolaten vertoonden met

enkele antisera lagere reactiviteiten (tabel 4, drie laatste regels). Dit alles betekent dat het vaccin in het afgelopen seizoen optimale bescherming heeft kunnen bieden tegen de meeste epidemische A(H1N1)pdm09-virusstammen. De WHO heeft in overeenstemming hiermee de stam A/California/7/2009 opnieuw gekozen als vaccinreferentiestam.⁷

Karakterisering influenza A(H3)-virussen

De HAR-uitslagen met de Nederlandse A(H3)-isolaten laten grote heterogeniteit zien (tabel 5). De gecursiveerde titers

Tabel 4. Antigene analyse van Nederlandse influenza A(H1)-virusisolaten uit het seizoen 2012/2013. Weergegeven zijn de titers van frettenantisera bereid met referentiestammen, vaccinstammen en representatieve Nederlandse isolaten, bepaald in een hemagglutineringsremmingstest (HAR) met kalkoenerythrocyten.

Virusstam ¹⁾	Seizoen	HAR-titer ¹⁾ van antiserum van fretten geïnfecteerd met					
		A/California	X-181	A/N/007	A/N/155	A/N/195	A/N/529
A/California/4/2009 ²⁾		1280	640	1280	1280	1280	1280
X-181 ³⁾		1280	1280	1280	2560	2560	1280
A/Netherlands/0007/2010	2010/2011	1280	640	1280	2560	2560	2560
A/Netherlands/0195/2012	2011/2012	2560	2560	2560	2560	2560	2560
A/Netherlands/0624/2012	2012/2013	640	640	640	1280	640	640
A/Netherlands/0001/2013	2012/2013	1280	1280	1280	1280	1280	1280
A/Netherlands/0529/2013	2012/2013	2560	2560	2560	2560	2560	2560
A/Netherlands/1825/2013	2012/2013	640	640	1280	2560	2560	2560
A/Netherlands/0155/2012	2011/2012	320	160	160	1280	640	320
A/Netherlands/0079/2013	2012/2013	640	640	160	1280	640	1280
A/Netherlands/1651/2013	2012/2013	320	160	160	1280	160	320

¹⁾ Alle virusstammen werden aangekweekt op MDCK-cellen. De laatste twee cijfers geven het jaar aan waarin de stam werd geïsoleerd. De titer in de HAR is de omgekeerde waarde van de hoogste verdunning van het frettenantiserum in de betreffende kolom die de hemagglutinatiesremming van kalkoenerythrocyten door een standaarddosis van het influenzavirus in de betreffende rij nog juist volledig remt. Homologe titers zijn vetgedrukt. Verschillen tussen titers uit verschillende kolommen zijn niet van belang. Binnen één kolom zijn de titers wel vergelijkbaar, waarbij alleen titerverschillen van tenminste een factor vier als significant worden beschouwd. Kader: zie tekst. ²⁾ A/California/4/2009 is nauw verwant aan A/California/7/2009, die de WHO-A(H1N1)-vaccinreferentiestam was/zal zijn voor de seizoenen 2010/2011 tot en met 2013/2014.⁷ ³⁾ X-181 was/zal zijn de vaccinstam voor de seizoenen 2012/2013 en 2013/2014. Het is een reassortant van A/California/7/2009.⁷

Tabel 5. Antigene analyse van Nederlandse influenza A(H3)-virusisolaten uit het seizoen 2012/2013. Weergegeven zijn de titers van frettenantiserum bereid met referentiestammen, vaccinstammen en representatieve Nederlandse isolaten, bepaald in een hemagglutineringsremmingstest (HAR) met kalkoenerijtrocyten.

Virusstam	Seizoen	HAR-titer ¹⁾ van antiserum van fretten geïnfecteerd met								
		IVR-165	Victoria	X-223A	N377/08	No09/10	No63/11	N700/11	No02/12	N622/12
IVR-165 ²⁾		1280	2560	1280	80	1280	160	320	320	160
A/Victoria/361/2011 ³⁾		640	2560	640	160	640	320	160	80	40
X-223A ⁴⁾		1280	2560	2560	80	1280	320	1280	320	320
A/Netherlands/0377/2008	2008/2009	160	2560	320	2560	1280	160	640	320	320
A/Netherlands/0009/2010	2009/2010	320	5120	640	320	2560	640	1280	2560	1280
A/Netherlands/0063/2011	2010/2011	640	5120	1280	160	5120	5120	2560	1280	2560
A/Netherlands/0700/2011	2011/2012	320	2560	320	80	1280	320	1280	640	320
A/Netherlands/0002/2012	2011/2012	160	1280	160	40	640	80	160	320	320
A/Netherlands/0622/2012	2012/2013	160	1280	160	40	640	80	160	320	320
A/Netherlands/0178/2013	2012/2013	160	1280	1280	160	1280	160	2560	1280	1280
A/Netherlands/0198/2013	2012/2013	80	1280	80	40	320	160	160	160	160
A/Netherlands/0326/2013	2012/2013	640	1280	640	160	2560	640	2560	1280	640
A/Netherlands/0393/2013	2012/2013	160	2560	320	160	640	320	320	320	640
A/Netherlands/0464/2013	2012/2013	160	320	80	10	320	80	160	160	160
A/Netherlands/0646/2013	2012/2013	160	5120	160	40	640	80	320	320	640
A/Netherlands/0879/2013	2012/2013	160	1280	640	80	1280	80	320	320	640
A/Netherlands/1060/2013	2012/2013	160	2560	320	80	1280	320	1280	640	640
A/Netherlands/1288/2013	2012/213	160	2560	160	20	640	80	160	160	320

1) Zie voetnoot 1 van tabel 4. 2) IVR165 was de vaccinstam voor 2012/2013. Het was een reassortant van A/Victoria/361/2011, de A(H3N2)-vaccinreferentiestam voor de seizoenen 2012/2013 en 2013/2014.⁷ 3) Dit A/Victoria/361/2011-virus was een uitsluitend in zoogdiercellen gekweekt preparaat; het antiserum 'Victoria' was hiermee bereid. 4) X-223A wordt de vaccinstam voor 2013/14. Het is een reassortant van A/Texas/50/2012, dat gelijk op A/Victoria/361/2011 en in de praktijk de A(H3N2)-vaccinreferentiestam voor het seizoen 2013/2014 is.⁷

tonen echter aan dat sinds het seizoen 2009/2010 geen significante systematische antigene drift is opgetreden (tabel 5, kader). Antiserum bereid met de vaccinstam IVR-165 vertoonde tegen de meeste isolaten 8- tot 16-voudig lagere titers dan de homologe titer (tabel 5, derde kolom). Dit wijst op onvoldoende gelijkenis van de vaccinstam met de Nederlandse A(H3)-isolaten. Dit is waarschijnlijk het gevolg van de eipassages van het vaccinvirus, zie boven. Antiserum bereid met zoogdiercelgekweekt A/Victoria/361/2011-virus vertoonde namelijk wel hoge titers tegen de Nederlandse A(H3)-isolaten (tabel 5, vierde kolom). De WHO heeft in overeenstemming hiermee de op A/Victoria/361/2011 gelijkende stam A/Texas/50/2012 gekozen als moederstam voor de bereiding van de reassortant X-223A voor het vaccin voor 2013/2014.⁷

De eipassages van A/Texas/50/2012 wijken in antigeen opzicht namelijk minder af van de zoogdiercelgekweekte passages dan de eipassages van A/Victoria/361/2011.

Karakterisering influenza B/Victoria/2/87-achtige virussen

De 11 B/Victoria/2/87-achtige isolaten (tabel 2) waren allemaal van de variant B/Brisbane/60/2008 die al sinds 2008/09 circuleert (tabel 6, kaders). In overeenstemming hiermee handhaafde de WHO B/Brisbane/60/2008 als vaccinreferentievirus voor de B/Victoria/2/87-lijn.⁷ In het trivalente influenzavaccin dat in Nederland wordt gebruikt was deze component niet opgenomen maar wel in het nieuwe tetravalente vaccin dat in Nederland nog niet in het Nationaal Programma Grieppreventie wordt aangeboden.⁷

Tabel 6. Antigene analyse van Nederlandse influenza B-virusisolaten uit het seizoen 2012/2013 van de fylogenetische B/Victoria/2/87-lijn. Weergegeven zijn de titers van frettenantiserum bereid met referentiestammen, vaccinstammen en representatieve Nederlandse isolaten, bepaald in een hemagglutinatieremmingstest (HAR) met kalkoenerijtrocyten.

Virusstam	Seizoen	HAR-titer ¹⁾ van antiserum van fretten geïnfecteerd met				
		B/Malaysia	B/Brisbane	B/No76/06	B/N385/09	B/N441/12
B/Malaysia/2506/2004 ²⁾		1280	160	40	40	20
B/Brisbane/60/2008 ³⁾		640	1280	20	640	1280
B/Netherlands/0076/2006	2005/2006	320	320	320	80	320
B/Netherlands/0385/2009	2008/2009	<10	160	20	1280	1280
B/Netherlands/0441/2012	2011/2012	<10	160	<10	640	640
B/Netherlands/0240/2013	2012/2013	320	1280	40	320	640
B/Netherlands/0463/2013	2012/2013	<10	160	<10	640	640
B/Netherlands/0811/2013	2012/2013	<10	160	10	640	640
B/Netherlands/1068/2013	2012/2013	<10	320	<10	640	640
B/Netherlands/1846/2013	2012/2013	<10	160	<10	640	640
B/Netherlands/2052/2013	2012/2013	<10	320	<10	640	1280
B/Netherlands/2145/2013	2012/2013	<10	40	<10	640	640

1) Zie voetnoot 1 van tabel 4. 2) B/Malaysia/2506/2004 was de vaccinstam voor B-virussen voor 2006/2007 en 2007/2008. 3) B/Brisbane/60/2008 was/zal zijn de vaccinreferentiestam voor de seizoenen 2011/2012 tot en met 2013/2014.⁷

Karakterisering influenza B/Yamagata/16/88-achtige virussen

De influenza B/Yamagata/16/88-achtige virussen hebben van 2003/2004 tot en met 2012/2013 geen significante antigene verandering ondergaan (tabel 7, kader). Echter, vanaf week 1 van 2013 lagen de titers van de antisera bereid met de vier WHO-stammen tegen de B/Yamagata/16/88-achtige isolaten significant wat lager (tabel 7, onderste zes regels). De WHO verkreeg overeenkomstige resultaten en verving daarom de vaccinstam B/Wisconsin/1/2010 door B/Massachusetts/2/2012.⁷

Influenzavaccineffectiviteit (VE)

De berekende gemiddelde VE vertoonde grote verschillen tussen de drie (sub)typen (tabel 8): bij A(H1N1)pdm09 en B hoog en bij A(H3), zowel voor Nederland als voor Europa niet meetbaar want VE = 0 valt binnen de 95% BI.¹⁵ Dit laatste is in lijn met de lage HAR-activiteit van de epidemische A(H3)-virussen met antiserum bereid met de vaccinstam IVR-165 (tabel 5). De grote 95% betrouwbaarheidsintervallen (BI) verminderen de betrouwbaarheid van de gemiddelde VE-waarden aanzienlijk. Daarnaast is het bij de gebruikte observationele methodiek niet mogelijk om het effect van selectiefactoren als algemeen gezondheidsgevoel en geneigdheid tot vaccinatie goed in te schatten. Diverse studies geven aan dat bij een

goede overeenkomst tussen vaccinvirus en epidemische stammen bij personen onder de 65 jaar de VE 70 tot 90% is en bij een suboptimale gelijkentis 50 tot 80%.³ Bij een recente herziening van een review uit 2010 van het internationale Cochrane Institute is berekend dat influenzavaccinatie bij ouderen de kans op in het laboratorium bevestigde IAZ met gemiddeld 49% (BI 33 tot 62%) wordt verlaagd en de kans op complicaties met 28% (BI 26 tot 30%) vermindert.¹⁶

Vaccinsamenstelling voor het seizoen 2013/2014

In februari 2013 adviseerde de WHO voor de samenstelling van het influenzavaccin voor het seizoen 2013/2014 op het noordelijk halfrond en in september ook voor het seizoen 2014 op het zuidelijk halfrond:⁷

- voor A(H1N1)pdm09: A/California/7/2009;
- voor A(H3N2): A/Victoria/361/2011 of A/Texas/50/2012;
- voor B: B/Massachusetts/2/2012 van de lijn B/Yamagata/16/88.

Gevoeligheid voor antivirale middelen

Uit het influenzaseizoen 2012/2013 werden 201 influenzavirussen uit de peilstations en 25 influenzavirussen van de diagnostische laboratoria, 99 A(H1N1)pdm09, 115 A(H3N2) en 12 B/Yamagata/16/88 lijn-influenzavirussen onderzocht op antivirale gevoeligheid.⁶ Alle vertoonden in

Tabel 7. Antigene analyse van Nederlandse influenza B-virusisolaten uit het seizoen 2012/2013 van de fylogenetische B/Yamagata/16/88-lijn. Weergegeven zijn de titers van frettenantiserum bereid met referentiestammen, vaccinstammen en representatieve Nederlandse isolaten, bepaald in een hemagglutineringsremmingstest (HAR) met kalkoenerijtrocyten.

Virusstam	Seizoen	HAR-titer ¹⁾ van antiserum van fretten geïnfecteerd met							
		B/Florida	B/Wisconsin	BX-39	BX-51B	N429	No87	N707	No39
B/Florida/4/2006 ²⁾		1280	1280	320	2560	80	640	<10	320
B/Wisconsin/1/2010 ³⁾		160	1280	640	640	20	160	40	40
BX-39 ⁴⁾		80	320	640	320	<10	80	<10	40
BX-51B ⁵⁾		1280	640	160	2560	40	640	<10	160
B/Netherlands/429/98	1998/1999	160	160	160	640	640	640	40	160
B/Netherlands/087/2004	2003/2004	320	160	160	640	160	640	160	640
B/Netherlands/707/2011	2011/2012	80	320	320	320	320	640	160	320
B/Netherlands/515/2012	2012/2013	320	320	320	640	320	640	160	640
B/Netherlands/521/2012	2012/2013	320	640	320	640	640	1280	640	640
B/Netherlands/039/2013	2012/2013	80	160	160	320	320	640	320	640
B/Netherlands/095/2013	2012/2013	80	160	160	320	160	640	80	640
B/Netherlands/1472/2013	2012/2013	80	160	160	160	160	640	80	320
B/Netherlands/2038/2013	2012/2013	80	160	160	320	160	640	160	320
B/Netherlands/2146/2013	2012/2013	80	160	160	320	160	640	80	320
B/Netherlands/2186/2013	2012/2013	80	160	160	160	160	320	160	160

1) Zie voetnoot 1 van tabel 4. 2) B/Florida/4/2006 was de vaccinstam in 2008/2009. 3) B/Wisconsin/1/2010 was de WHO-vaccinreferentiestam voor het seizoen 2012/2013.⁷ 4) BX-39 was de vaccinstam voor het seizoen 2012/2013. Het was een reassortant van B/Hubei Wujiagang/158/09, die gelijk is op B/Wisconsin/1/2010.⁷ 5) BX-51B is de vaccinstam voor het seizoen 2013/2014. Het is een reassortant van B/Massachusetts/2/2012, de WHO-vaccinreferentiestam voor het seizoen 2013/2014.⁷

Tabel 8. Schatting van de gemiddelde VE in het seizoen 2012/2013, gebaseerd op influenzapositieve en influenzanegatieve IAZ-monsters afgenomen door NIVEL Zorgregistraties eerste lijn.

Virus	% VE (95% BI) ¹⁾	
	Nederland	Europa ²⁾
A(H1)pdm09	72% (21% - 90%)	62% (-23% - 88%)
A(H3)	-1% (-152% - 59%)	42% (-67% - 80%)
B	82% (53% - 93%)	78% (18 - 94%)
Alle (sub)typen	62% (25% - 80%)	50% (-21 - 80%)

1) De VE werd voor Nederland onderzocht van week 40 in 2012 tot en met het einde van de epidemie in week 16 (2013), voor Europa tot en met week 3. BI: betrouwbaarheidsinterval. De waarden werden gecorrigeerd voor leeftijd, chronische ziekte, respiratoire allergie (inclusief astma en COPD) en immunodeficiëntie. 2) Europa: gegevens casecontrolstudie van I-MOVE, een organisatie die sinds 2008/2009 de effectiviteit van het influenzavaccin onderzoekt.¹⁵

de fenotypische test normale gevoeligheid voor neuraminidaseremmers. Geen van de A(H1N1)pdm09-virussen had

de moleculaire marker H275Y en geen van de A(H3N2)-virussen had de moleculaire markers E119V of R292K voor (sterk) verminderde gevoeligheid voor neuraminidaseremmers (tabel 9). Alle geanalyseerde A(H1N1)pdm09-virussen (n = 10) en A(H3N2)-virussen (n = 15) bevatten wel de S31N-aminozuursubstitutie in het M2-eiwitgen, die indicatief is voor sterk verminderde remming door de M2-ionkanaalblockers amantadine en rimantadine (tabel 9). Twee ziekenhuizen meldden een geval van een met oseltamivir behandelde patiënt met een A(H1N1)pdm09-influenzavirusinfectie die resistentie tegen de behandeling ontwikkelde. Bij beide, niet epidemiologisch gerelateerde patiënten werd virus met de H275Y-aminozuursubstitutie aangetroffen welke samenhangt met sterk verminderde remming door oseltamivir.

Conclusie

De influenza-epidemie van het seizoen 2012/2013 was de meest langdurige van de laatste 25 jaar bij een langdurige koude en droge winter. Het griepvaccin was weinig effectief tegen de circulerende A(H3)-virussen.

Tabel 9. Overzicht van de gevoeligheid van influenzavirussen uit seizoen 2012/2013 voor antivirale middelen.

Virus	Aantal onderzochte virussen met (sterk) verminderde remming door:	
	Neuramidase-remmers	M2-ionkanaal-blokkers
A(H3N2)	0/254	34/34 (100%)
A(H1N1)pdm09	2/7	6/6 (100%)
B	0/7	niet onderzocht ¹⁾

¹⁾ Niet onderzocht omdat al vanaf hun introductie bekend is dat M2-ionkanaalblokkers niet werkzaam zijn tegen type B-virussen.

Abstract

The epidemic of the 2012/2013 season was of considerable size and long duration: 18 weeks, whereas in the past the average duration was eight weeks. Subtypes A(H1N1)pdm09 and A(H3) were dominant at the beginning, later B/Yamagata/16/88-like viruses became dominant. Since 2009/2010, no significant antigenic drift was observed in any of the four circulating influenza viruses. In HI assays, the vaccine strains compared well to the epidemic strains for A(H1)pdm09 and B/Victoria/2/87 but not for the A(H3)- and B/Yamagata/16/88-like viruses. A case-control study suggests that the VE was fair for A(H1)pdm09 and B viruses and low for A(H3) viruses. A random sample of 226 influenza viruses did not show reduced inhibition by neuraminidase inhibitors. A(H1N1)pdm09-virus from two with oseltamivir treated patients displayed the H275Y molecular marker for highly reduced inhibition by oseltamivir.

Dankbetuigingen

Ook in het seizoen 2012/13 was de influenzasurveillance in Nederland niet mogelijk geweest zonder de bereidwilligheid van het hoofd van de verschillende diagnostische laboratoria die hebben meegewerkt om influenzaviruspreparaten naar het Erasmus MC te sturen. De bijdragen van de peilstationhuisartsen van NIVEL Zorgregistraties eerste lijn – registratie van IAZ en verzending van klinische monsters naar het NIC-RIVM – waren eveneens essentieel voor deze surveillance. The authors gratefully acknowledge the generous gift of influenza reference viruses and antisera from dr. J. McCauley from the World Influenza Centre in London. De auteurs danken R. van Beek en H. de Gruyter (het NIC-Erasmus MC), M. Bagheri, T. Marzec, S. Jenny, A-M. van den Brandt en P. Overduin (het NIC-RIVM) en M. Heshusius-van Valen (het NIVEL) voor de uitstekende technische ondersteuning.

Potentieel belangenconflict: J.C. de Jong, G.F. Rimmelzwaan en A.D.M.E. Osterhaus zijn fulltime of parttime medewerkers van ViroClinics Biosciences BV, een Erasmus MC spin-out die contractresearch uitvoert voor de farmaceutische industrie. De andere auteurs melden geen mogelijk belangenconflict.

Referenties

- Shaw ML, Palese P. Orthomyxoviridae. Knipe, DM, Howley, PM (eds). *Fields Virology*. Wolters Kluwer. 2013;1151-85.
- De Jong JC, Meijer A, Donker GA, Hoek W van der, Rimmelzwaan GF, Osterhaus ADME. Het influenzaseizoen 2011/12 in Nederland. Een kleine epidemie gedomineerd door het A(H3N2)-virus. *Ned Tijdschr Med Microbiol*. 2012;20:142-8.
- Wright PF, Neumann G, Kawaoka Y. Orthomyxoviruses. Knipe, DM, Howley, PM (eds). *Fields Virology*. Wolters Kluwer. 2013;1186-1243.
- Donker GA. Jaarverslag 2012 van de Continue Morbiditeits Registratie peilstations Nederland, Utrecht, www.nivel.nl/peilstations.
- De Lange MM, Meijer A, Friesema IH, Donker GA, Koppeschaar CE, Hooiveld M, et al. Comparison of five influenza surveillance systems during the 2009 pandemic and their association with media attention. *BMC Public Health*. 2013;13:881.
- Meijer A, Jonges M, Abbink F, Ang W, van Beek J, Beersma M, et al. Oseltamivir-resistant pandemic A(H1N1) 2009 influenza viruses detected through enhanced surveillance in the Netherlands, 2009-2010. *Antiviral Res*. 2011;92:81-9.
- WHO. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2013-2014 northern hemisphere influenza season. *Wkly Epidemiol Rec*. 2013;88:101-14.
- Hemmes JH, Winkler KC, Kool SM. Virus survival as a seasonal factor in influenza and poliomyelitis. *Nature*. 1960;188:430-1.
- Schaffer FL, Soergel ME, Straube DC. Survival of airborne influenza virus: effects of propagating host, relative humidity, and composition of spray fluids. *Arch Virol*. 1976;51:263-73.
- Tamerius J, Nelson MI, Zhou SZ, Viboud C, Miller MA, Alonso WJ. Global influenza seasonality: reconciling patterns across temperate and tropical regions. *Environ Health Perspect*. 2011;119:439-45.
- Lin YP, Xiong X, Wharton SA, Martin SR, Coombs PJ, Vachieri SG, et al. Evolution of the receptor binding properties of the influenza A(H3N2) hemagglutinin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109:21474-9.
- ECDC. Fortnightly influenza surveillance overview, 9 May 2013. www.ecdc.europa.eu
- De Jong JC, de Ronde-Verloop FM, Veenendaal-van Herk TM, Weijers TF, Bijlsma K, Osterhaus ADME. Antigenic heterogeneity within influenza A(H3N2) virus strains. *Bull WHO* 1988;66:47-55.
- Robertson JS. Clinical influenza virus and the embryonated hen's egg. *Rev Med Virol*. 1993;3:97-106.
- Valenciano M, Kissling E; I-MOVE Case-Control Study Team. Early estimates of seasonal influenza vaccine effectiveness in Europe: results from the I-MOVE multicentre case-control study, 2012/13. *Euro Surveill*. 2013;18:3.
- Beyer WEP, McElhaney J, Smith DJ, Monto AS, Nguyen-Van-Tam JS, Osterhaus ADME. Cochrane re-arranged: Support for policies to vaccinate elderly people against influenza. *Vaccine*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.09.063>. 2013

Serologische diagnostiek van acute denguevirusinfecties bij Nederlandse reizigers: de bruikbaarheid van Point of Care Testing en de invloed van IgG-kruisreactiviteit

F.F. Stelma, C. Liem, J. van Baars, M.F.C.T. Beersma, N.M.R. van der Haar, J.L.A.N. Murk

Samenvatting

Nederlanders laten zich vaccineren tegen gele koorts, tekenencefalitis en Japanse encefalitis en reizen naar verschillende flavivirusendemische gebieden waar zij blootgesteld worden aan deze virussen. Deze blootstellingen bemoeilijken de serologische diagnostiek van een acute DENV-infectie (DENV = denguevirus). Dit artikel beschrijft A. de prestaties van Point of Care Testing (POCT) in acute DENV-infectie bij de Nederlandse reizigers en B. de invloed van flavivirus-IgG-kruisreactiviteit voor de serologische diagnostiek.

- A. Monsters afkomstig van patiënten met een acute DENV-infectie (n = 94), recente DENV-infectie (n = 14) en geen DENV-infectie (n = 28) werden geëvalueerd in vijf POCT's: BioNS_I, FocNS_I, PanNS_I, SD-IgM/IgG, PanBio-IgM/IgG. De sensitiviteit was respectievelijk 75, 72, 72, 56 en 59%. De combinatie van BioNS_I en SD-IgM behaalde een sensitiviteit van 89%. De negatiefvoorspellende waarden waren ongeveer 50% in alle combinaties.
- B. Monsters afkomstig van patiënten met een DENV-infectie (n = 29), niet-DENV-flavivirusinfectie (n = 29), geen flavivirusinfectie (n = 38) en flavivirus-gevaccineerde reizigers (n = 20) werden onderworpen aan een IgG ELISA. Seropositiviteit werd gezien in respectievelijk 83, 69, 8 en 5%. De DENV-specifieke IgG-titers van gevaccineerde reizigers waren laag vergeleken met de titers van DENV- en non-DENV-blootgestelde patiënten.

Bij Nederlandse reizigers heeft een combinatie van NS_I en IgM POCT een gevoeligheid van > 85% voor het vaststellen van een acute DENV-infectie. De negatiefvoorspellende waarde is echter laag. Vaccinatie tegen flavivirussen is geen belangrijk probleem voor de serologische diagnostiek van een DENV-infectie, eerdere expositie aan DENV- of non-DENV-flavivirussen echter wel.

Summary

Dutch travelers are often vaccinated against yellow fever, tick-borne encephalitis and Japanese encephalitis. Further,

many travel to flavivirus endemic areas. These exposures complicate serological diagnosis of acute dengue virus (DENV) infection. This paper describes A. the achievements of Point of Care Testing (POCT) in diagnosing acute DENV infection in Dutch travelers and B. the influence of flavivirus IgG cross-reactivity for the serological diagnostics.

- A. Samples from patients with acute DENV infection (n = 94), recent DENV infection (n = 14) and no DENV infection (n = 28) were evaluated in five POCTs: BioNS_I, PanNS_I, FocNS_I, SD-IgM/IgG and Pan-IgM/IgG. The sensitivity was 75, 72, 72, 56 and 59%, respectively. The combination of BioNS_I and SD-IgM achieved a sensitivity of 89%. The negative predictive value was about 50% in all POCT combinations.
- B. Samples from patients with DENV infection (n = 29), non-DENV flavivirus infection (n = 29), no flavivirus infection (n = 38) and flavivirus vaccinated travelers (n = 20) were subjected to DENV-IgG ELISA. Seropositivity was seen in 83, 69, 8 and 5%, respectively. The DENV-specific IgG titers in vaccinated subjects were low compared to high titers in DENV and non-DENV-flavivirus exposed patients.

In Dutch travelers a combination of NS_I and IgM POCT has a sensitivity of > 85% for diagnosing an acute DENV infection. However, the negative predictive value is low.

C. Liem, M.F.C.T. Beersma, Erasmus MC, Viroscience, Rotterdam, J. van Baars, Gemeentelijke Gezondheidsdiensten Nijmegen, Nijmegen, N.M.R. van der Haar, Radboudumc, afdeling Medische Microbiologie, sectie virologie, Nijmegen, J.L.A.N. Murk, Erasmus MC, Viroscience, Rotterdam, UMC Utrecht, afdeling Medische Microbiologie, sectie virologie, Utrecht.
Correspondentieadres: F.F. Stelma, Radboudumc, afdeling Medische Microbiologie, sectie virologie, Nijmegen,
e-mail: foekje.stelma@radboudumc.nl

Vaccination against flaviviruses is not a major problem for the serological diagnosis of a DENV infection, however previous exposition to DENV and/or non-DENV flaviviruses is.

Trefwoorden

Denguevirus, POCT, vaccinatie, DENV-infectie, serologie

Introductie

Flaviviridae zijn relatief kleine (50 nm) ss⁺-RNA-virussen met een enveloppe en komen wereldwijd voor. Binnen het genus flavivirus kennen we ongeveer 80 virussen. Voor de mens belangrijke pathogenen zijn het denguevirus (DENV), het Japanse encefalitis virus (JEV), het westnijlvirus (WNV), het St. Louis-encefalitisvirus (SLEV), het gele koortsvirus (YFV), het tekenencefalitisvirus (TBE) en het hepatitis C-virus (HCV). DENV, JEV, WNV, SLEV, YFV en TBE zijn fylogenetisch nauw verwant en worden verdeeld in vier serocomplexgroepen, namelijk het dengue-serocomplex (DENV), Japanse encefalitis-serocomplex (JEV, WNV, SLEV), gele koorts-serocomplex (YFV) en TBE-serocomplex (TBE). Met uitzondering van HCV en TBE worden bovenstaande flavivirussen overgedragen door muggen. Humane flavivirusinfecties zijn meestal geassocieerd met griepachtige ziektebeelden. Sommige individuen kunnen echter een meer ernstig ziektebeeld ontwikkelen met shock, hemorragie en encefalitis.¹

Het genoom van flavivirussen codeert voor drie structurele eiwitten (Core, M en E) en zeven niet-structurele eiwitten (NS₁, NS_{2a}, NS_{2b}, NS₃, NS_{4a}, NS_{4b} en NS₅). De humorale gastheerrespons is met name gericht tegen het immunogene E-eiwit. Deze membraangebonden glycoproteïne is verantwoordelijk voor binding aan de cellulaire receptor van de gastheer en voor membraanfusie. Tijdens een DENV-infectie ontstaan antistoffen tegen het E-eiwit en de detectie daarvan vormt de hoeksteen van veel commerciële ELISA's.² Het E-eiwit bevat zowel epitopen die specifiek zijn voor afzonderlijke flavivirus-species als epitopen die geconserveerd zijn binnen het hele genus. Hieruit volgt dat het te verwachten is dat kruisreactieve antistoffen ontstaan.^{3,4}

NS₁ is een glycoproteïne die van belang is om het afweersysteem het flavivirus te laten herkennen; het wordt uitgescheiden door geïnfecteerde cellen en kan dienen als marker van virale replicatie. NS₁ blijkt vrij species-specifiek te zijn. Antistoffen tegen NS₁ beperken de periode waarin NS₁ gedetecteerd kan worden en zorgen ervoor dat NS₁ bij secundaire infecties met denguevirus niet of slechts kortdurend aantoonbaar is. Bij een primaire DENV-infectie is NS₁ gedurende de eerste week na start symptomen te detecteren (*figuur 1*) en soms nog langer.⁵

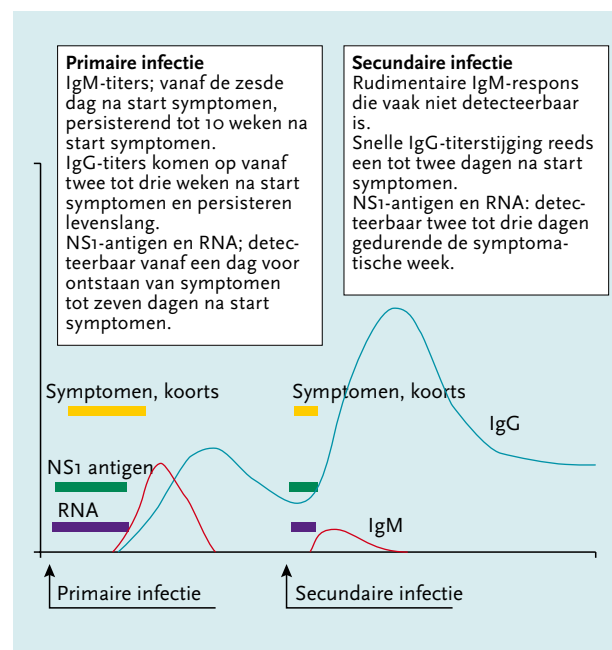
Jaarlijks maken alle Nederlanders tezamen in totaal 18,4 miljoen buitenlandse reizen. Deze reizen gaan vaak naar flavivirusendemische gebieden; 8 % van de reizen gaat

naar een YFV-endemisch gebied, 2% naar JEV-endemisch gebied, 6% naar gebieden met TBE, 5% naar gebieden met WNV en 10% naar DENV-endemisch gebied. De gebieden waar de verschillende flavivirussen voorkomen overlappen (*figuur 2*); infecties van reizigers met een of meerdere flavivirussen komen regelmatig voor. De meeste infecties verlopen mild en blijven beperkt tot griepachtige verschijnselen. Omdat de klinische presentaties van de flavivirussen gedeeltelijk overlappen, kan tijdens de acute fase van de ziekte op klinische gronden moeilijk onderscheid worden gemaakt tussen de verschillende ziekteverwekkers. Om een diagnose te stellen is daarom naast een goede reisanamnese en adequate laboratoriumdiagnostiek onontbeerlijk.

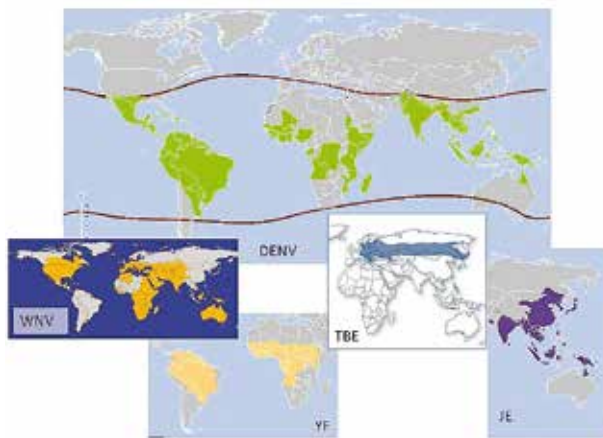
De diagnostiek naar flavivirusinfecties, en acute DENV-infecties in het bijzonder, is echter lastig. Dat heeft een aantal redenen. Bij DENV-infecties is de humorale dynamiek verschillend bij een primaire en een secundaire DENV-infectie (*figuur 1*). Gedurende de eerste week van een symptomatische infectie is het niet mogelijk om te varen op IgG- en IgM-diagnostiek. In deze acute fase moet men RNA-diagnostiek uitvoeren op bloed of kan men het NS₁-antigeen bepalen in serum.⁶ Moleculaire diagnostiek naar DENV is echter alleen mogelijk in enkele gespecialiseerde centra en de gevoeligheid van de RNA-diagnostiek en de NS₁-antigeentest is sterk afhankelijk van de dag van bloedafname en de fabrikant van de test.

Diagnostiek van een secundaire DENV-infectie vaart met name op een viervoudige IgG-titerstijging in de eerste veertien dagen van infectie (*figuur 1*). Het aandeel van

Figuur 1. De humorale en virologische dynamiek van een primaire en secundaire DENV-infectie.



Figuur 2. Endemische gebieden van verschillende flavivirussen: DENV = denguevirus, YFV = gele koortsvirus, TBE = tekenencefalitisvirus, WNV = westnijlvirus, JEV = Japanse encefalitisvirus. Kaarten zijn afkomstig van: <http://apps.who.int/ithmap/>, http://www.nathnac.org/pro/factsheets/tick_borne.htm, http://Global_distribution_of_West_Nile_virus-CDC.gif.



secundaire infecties in Europese reizigers is geschat op 0,002-17%.^{7,8} Bij een secundaire DENV-infectie kan het initiële beleid meestal alleen worden bepaald op basis van de waarschijnlijkheidsdiagnose en het bestaan van alarmsymptomen en -tekenen volgens het WHO-stroomschema.^{9,10} Bij secundaire DENV-infectie heeft serologie hoogstens een bevestigende rol.

De serologische diagnostiek wordt behalve door de dynamiek ook bemoeilijkt door sterke kruisreactiviteit in de IgG-serologie tussen verschillende flavivirussen en vals-positieve IgM-reacties die het gevolg zijn van een andere acute infectie of circulerende heterofiele antistoffen.^{4,11} Daarbij moet mogelijk ook rekening worden gehouden met de invloed van (recente) vaccinaties voor gele koorts, Japanse encefalitis en/of tekenencefalitis. Het precieze aantal reizigers dat zich laat vaccineren is onbekend. Hierdoor is het stellen van een diagnose op een enkelvoudig serummonster vaak niet mogelijk en moet in een convalescent serum gekeken worden naar een IgG-seroconversie of viervoudige titerstijging. De gouden standaard blijft een virusneutralisatietest;¹² deze wordt in Nederland echter niet routinematig toegepast.

Nieuwe generatie serologische testen

Sinds enkele jaren zijn verschillende mogelijkheden voor Point of Care Testing (POCT) voor het aantonen van een DENV-infectie op de markt gekomen.¹³ Deze testen zijn gemakkelijk uit te voeren en kunnen naast een sneltest op malaria in ieder laboratorium worden uitgevoerd. Een belangrijk antigeen in het kader van deze diagnostiek is het NSI-eiwit dat in overmaat vrijkomt in

de bloedbaan tijdens een DENV-viremie. Bij een primaire DENV-infectie in de eerste week van infectie varieert de sensitiviteit van een NSI-antigeen POCT tussen 54 en 70%.^{14,15} In de tweede week neemt de sensitiviteit van de NSI-antigeen POCT snel af.³ Om het diagnostisch venster te verbreden zijn combinatietesten voor NSI-antigeen en DENV-specifiek-IgM op de markt gebracht. Finse onderzoekers lieten zien dat een testcombinatie van NSI-antigeen en DENV-specifiek-IgM een sensitiviteit haalt van 96% bij patiënten met een primaire DENV-infectie. Apart lieten de NSI-test en de IgM ELISA een lagere sensitiviteit zien van respectievelijk 67 en 80%.¹⁶ Een recent onderzoek in een DENV-endemisch gebied in Maleisië liet zien dat de POCT van Standard Diagnostics (NSI en IgM) een goede sensitiviteit had voor zowel primaire als secundaire dengue-infecties, respectievelijk 90 en 100%.¹⁴ De diagnostische prestaties van verschillende POCT's in het niet-endemische Nederland zijn echter nog niet onderzocht.

De afdelingen virologie van het Erasmus MC en het Radboudumc kregen in de nationale werkgroep 'arbovirussen', geïnitieerd door het RIVM¹⁷, samen de opdracht om de prestaties van verschillende serologische testen in kaart te brengen. Het doel was drieledig: 1) de prestaties van commerciële POCT's voor de detectie van DENV-infectie in Nederlandse reizigers evalueren, 2) de invloed van niet-DENV-flavivirusinfecties (YFV, JEV, TBE, WNV) en vaccinatie tegen non-DENV-flaviviridae (YFV en TBE) op de IgG-reactiviteit in een commerciële DENV ELISA onderzoeken en 3) de prestaties van veelgebruikte commerciële ELISA's voor de IgG- en IgM-detectie van DENV-infectie in Nederlandse reizigers evalueren. Resultaten van de eerste twee punten worden hieronder besproken.

Materiaal en methode

De evaluatie van commerciële POCT's

Voor deze studie werden van 136 reizigers 272 monsters, ingestuurd tussen januari 2000 en februari 2011 naar het Erasmus MC met de vraagstelling DENV-infectie, geselecteerd uit de serumbank. Van deze monsters waren de uitslagen van DENV IgG- en IgM- diagnostiek bekend (Dengue DxSelect IgM en IgG capture, Focus Diagnostics, VS). Een groot aantal sera was ook getest op aanwezigheid van NSI-antigeen (PlatNSI-antigeen ELISA, Bio-Rad Laboratories, France) of DENV-RNA in bloed (RT-PCR met consensus primer gericht tegen het 3' niet coderende regio¹⁸ en serotype specifieke primers gericht tegen het core eiwit.¹⁹

De monsters werden onderverdeeld in:

A. Acute infecties (n = 94; NSI-positief en/of RNA-positief en IgG-seroconversie in convalescent monster). Drie van deze monsters waren afkomstig van patiënten met een

secundaire DENV-infectie en waren al IgG-positief in het eerste monster.

B. Recente DENV-infectie ($n = 14$; NS1-negatief, IgG-negatief en IgM-positief in het eerste serummonster en significante IgG-titerstijging in het convalescent monster). Bij twee sera was waarschijnlijk sprake van een secundaire dengue-infectie vanwege aanwezigheid van IgM en IgG in het eerste serum en een significante titerstijging in het convalescente serum.

C. Geen DENV-infectie ($n = 28$; alleen IgM-positief in het eerste serummonster zonder IgG-seroconversie in het convalescent monster).

136 Eerste serummonsters werden getest met BioNS1 POCT (Dengue NS1 Ag Strip, Bio-Rad Laboratories, France), FocNS1 POCT (Dengue Dx™ NS1 Antigeen Rapid Test, Focus Diagnostics, VS), PanNS1 POCT (Panbio Dengue Early Rapid, PanBio, Australia), PanIgM POCT (Panbio Dengue Duo Cassette, PanBio, Australia), SDIgM POCT (SD BIOLINE Dengue Duo kit, Standard Diagnostics, Korea), PlatNS1 ELISA (Platelia Dengue NS1 Ag test, Bio-Rad Laboratoris, France) en Focus IgM ELISA (Dengue Virus IgM Capture DxSelect, Focus Diagnostics, VS) volgens voorschrift.

Flaviviruskruisreactiviteit in de IgG-serologie

Voor deze studie werden serummonsters gebruikt uit de periode januari 2006 t/m december 2011. Deze waren deels geselecteerd uit de serumbank van het Radboudumc en deels afgenomen bij reizigers zoals beschreven hieronder. Het testpanel bestond uit vier groepen:

A. 29 Convalescent monsters van patiënten met een bewezen DENV-infectie die was vastgesteld middels DENV-NS1-antigeenpositiviteit in het serummonster afgenomen tijdens de acute fase van infectie (Platelia NS1 antigeen ELISA, Bio Rad, Frankrijk) of IgG-seroconversie in het convalescent serummonster (Dengue DxSelect IgM en IgG capture, Focus Diagnostics, VS).

B. Monsters van patiënten met non-DENV-flavivirusinfecties; zes YFV (IgG-positief middels IFA met bijbehorend klinisch beeld van gele koorts en positieve gele koorts-PCR; EuroImmune, Duitsland), vijf JEV (IgG-positief middels IFA; EuroImmune, Duitsland), negen TBE (IgG-positief middels ELISA, Virion-Serion, Duitsland) en negen WNV uit serumbank in Griekenland.²⁰

C. Serummonsters afgenomen van reizigers gevaccineerd tegen TBE, YFV of JEV, die werden gerekruteerd via de reizigers polikliniek van de GGD in Nijmegen. De reizigers werden benaderd naar aanleiding van een vaccinatie tegen bovengenoemde flavivirussen die in de afgelopen 10 jaar plaatsvond. Zij verleenden allen toestemming voor het afnemen en testen van een serummonster; zeven YFV-gevaccineerd, vijf TBE-gevaccineerd, zes YFV- en TBE-gevaccineerd en twee YFV- en JEV-gevaccineerd.

D. Een negatief panel bestaande uit sera van 10 malaria-blootgestelde patiënten (Ig-positief in IFA, Radboud home made), 12 sera van patiënten met een actieve hepatitis C-virusinfectie (Ig-positief, Architect Anti-HCV, Abbott, US) geconfirmeerd door immunoblot (Inno-LIA, Innogenetics, België), 16 sera van patiënten met Epstein barr-positieve serologie, mycoplasmapositieve serologie, reumafactorpositieve serologie, luespositieve serologie, Q-koorts-positieve serologie en rickettsia-positieve serologie. De vier panels werden getest middels een commerciële kwantitatieve IgG ELISA met een antigeenbron gebaseerd op gezuiverde DENV2-partikels (Anti-Dengue Virus ELISA (IgG), EuroImmune, Duitsland) in een serumverdunding van 1:100. Data-analyse werd verricht middels SPSS Statistics 17 (SPSS Inc.).

Resultaten

De evaluatie van commerciële POCT's

Van de $n = 94$ PlatNS1 ELISA-positieve monsters reageerden $n = 75$, $n = 72$ en $n = 72$ monsters positief in de BioNS1-, FocNS1- en PanNS1 POCT. De BioNS1-test liet geen fout-positieve reacties zien, terwijl dit wel het geval was bij een monster in de FocNS1 POCT en twee monsters in de PanNS1 POCT (tabel 1). De sensitiviteit en specificiteit van PlatNS1, BioNS1, FocNS1 en PanNS1 waren respectievelijk 87, 69, 67, 67 en 100, 100, 96, 93%. De positief- en negatiefvoorspellende waarden waren respectievelijk 100, 100, 99, 97 en 67, 46, 43 en 42% (tabel 1).

In de acute fase was de sensitiviteit van de POCT's voor IgM lager dan die van NS1. De sensitiviteit en specificiteit van de SDIgM-POCT en PanIgM-POCT waren respectievelijk 53, 56 en 89, 75%. De positief- en negatiefvoorspellende waarden waren respectievelijk 95, 89 en 33, 31%. Bij het combineren van de NS1- en IgM-POCT's bij monsters van patiënten met een acute DENV-infectie liet de combinatie van FocNS1/SDIgM en BioNS1/SDIgM de beste prestaties zien met een sensitiviteit en een specificiteit van respectievelijk 89, 86 en 89, 89% (tabel 1). Van de vijf secundaire DENV infecties werden drie opgepikt met een POCT-combinatie van NS1 en IgM (60%).

Flaviviruskruisreactiviteit in de IgG-serologie

Van de 29 monsters met een bewezen DENV-infectie waren 24 (83%) IgG-positief in de ELISA voor denguevirus. Van de 29 monsters met een non-DENV-infectie testten 20 (69%) IgG-positief, van het vaccinatiepanel testte een (5%) IgG-positief en van het negatieve panel ($n = 38$) waren drie IgG-positief. Deze drie monsters waren alle afkomstig van patiënten met een reisanamnese naar een flavivirus-endemisch gebied. Geen enkel monster afkomstig van HCV-positieve patiënten was positief.

Opvallend was dat monsters afkomstig van patiënten met echte flavivirusinfecties (DENV- en non-DENV-flavivirus)

Tabel 1. Diagnostische evaluatie van vijf Point-of-Care Testen (POCT). D+ = denguepositieve monsters, D- = denguenegatieve monsters, T+ = test-positief, T- = test-negatief, PPV = positiefvoorspellende waarde, NPV = negatiefvoorspellende waarde.

		D+	D-	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
PlatNS1 ELISA	T+	94	0	0,87	1	1	0,67
	T-	14	28				
BioNS1 POCT	T+	75	0	0,69	1	1	0,46
	T-	33	28				
FocNS1 POCT	T+	72	1	0,67	0,96	0,99	0,43
	T-	36	27				
PanNS1 POCT	T+	72	2	0,67	0,93	0,97	0,42
	T-	36	26				
Focus IgM ELISA	T+	63	28	0,63	0	0,69	0
	T-	37	0				
SDIgM POCT alone	T+	56	3	0,53	0,89	0,95	0,33
	T-	50	25				
FocNS1 and SDIgM	T+	94	4	0,89	0,86	0,96	0,67
	T-	12	24				
PanIgM POCT alone	T+	59	7	0,56	0,75	0,89	0,31
	T-	47	21				
PanNS1 and PanIgM	T+	91	8	0,86	0,71	0,92	0,57
	T-	15	20				
BioNS1 and SDIgM	T+	94	3	0,89	0,89	0,97	0,68
	T-	12	25				

gemiddeld hoge IgG-titers lieten zien (respectievelijk 151 RU/ml en 60 RU/ml) terwijl monsters afkomstig van gevaccineerde personen IgG-titers lieten zien onder of rond de afkapwaarde (mediaan 6 RU/ml; *figuur 3*).

Discussie

Deze twee studies laten zien dat serologische diagnostiek van primaire DENV-infecties (DENV = denguevirus) bij Nederlandse reizigers redelijk betrouwbaar is, ook in het acute stadium. Het is wel van groot belang de serologische dynamiek van de infectie te kennen en bij het kiezen van een test hier rekening mee te houden. Het gebruik van een POCT is mogelijk en het meest effectief wanneer men detectie van NS1-antigeen en IgG-/IgM-antistoffen combineert. Onze studie liet zien dat de sensitiviteit van de meest gangbare combinaties groter is dan 85%, met een negatiefvoorspellende waarde tussen 50 en 70. Dit is vergelijkbaar met eerdere evaluaties. Het toevoegen van een NS1-test aan de IgM-/IgG-diagnostiek verbetert de sensitiviteit met ongeveer 30%. Omgekeerd verbetert het toevoegen van een IgM-test aan de NS1-test de sensitiviteit met ongeveer 20%. Wegens de virologische en

serologische dynamiek van een acute DENV-infectie is het moeilijk in de acute infectie de negatiefvoorspellende waarde te verbeteren. Een convalescent serummonster zal daarom een belangrijk onderdeel blijven uitmaken van deze diagnostiek.

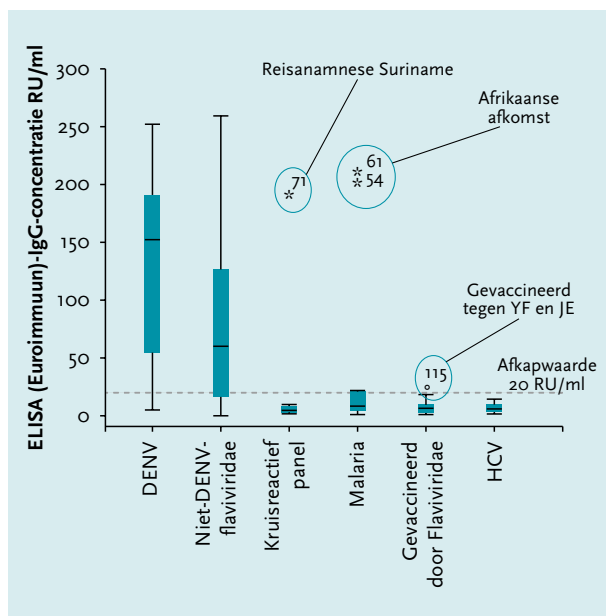
De beste combinatie van POCT's leek BioRad NS1 met SD IgM/IgG. Dit algoritme liet zowel een sensitiviteit als een specificiteit van 89% zien in het acute stadium. De IgM/IgG van Focus werd niet afzonderlijk geëvalueerd omdat Focus Diagnostics en Standard Diagnostics onder hun eigen naam dezelfde test verkopen. BioRad heeft geen POCT voor IgM/IgG.

De testprestaties in de Nederlandse situatie zijn niet helemaal vergelijkbaar met de prestaties in endemische gebieden. In endemische gebieden bestaan veel meer secundaire infecties. Onze studie had een te lage power om de sensitiviteit van POCT's in secundaire DENV-infectie goed te evalueren. Wij vonden een sensitiviteit van 60%, die lager is dan de resultaten uit endemische studies. Echter, de a-priorische kans op het krijgen van een DENV-infectie is ook hoger in een endemisch gebied, iets wat de voorspellende waarden van de test zeker beïnvloedt. De specificiteit

van de NSI-antigeentest is hoog. Fout-positieve resultaten zien wij zelden, maar kunnen voorkomen als gevolg van immuuncomplexvorming bij auto-immuunziekten. In onze evaluatie zagen wij twee keer een fout-positief resultaat voor NSI-antigeen (FocNSI: n = 1, PanNSI: n = 1).

Het is al lang bekend dat diagnostiek naar DENV-infecties wordt bemoeilijkt door IgG-kruisreactiviteit tussen DENV- en niet-DENV-flavivirussen. De mate van dit probleem bij Nederlandse reizigers is echter onvoldoende bestudeerd. Opvallend is dat in ons zorgvuldig voorgeselecteerde panel van een bewezen DENV-infectie vier monsters een lage (negatieve) ELISA-IgG-titer lieten zien. Deze monsters zijn onderworpen aan een IFA (*Anti-Flavivirus Mosaic*, Euroimmun; data niet gepubliceerd). Drie monsters lieten reactiviteit zien tegen gele koorts (n = 3) en een monster ook tegen TBE/JE (n = 1). Deze monsters zijn daarom zeer waarschijnlijk afkomstig van gevaccineerde reizigers en niet van patiënten met een DENV-infectie. Een monster liet duidelijke seroreactiviteit zien in de Focus ELISA, maar niet in de Euroimmun ELISA en is dus zeer waarschijnlijk fout-negatief in de Euroimmun ELISA. Een doorgemaakte infectie met DENV of niet-DENV gaf in onze studie een gemiddelde IgG-serumtiter die ruim boven de afkapwaarde uitkwam (figuur 3), terwijl

Figuur 3. IgG-titers (RU/ml) gemeten middels ELISA (Euroimmun, Duitsland). De titers van een doorgemaakte DENV-infectie en niet-DENV-flavivirusinfectie zijn statistisch niet te onderscheiden. De titers van flavivirusgevacineerde reizigers zijn laag en liggen rond de afkapwaarde.



DENV = denguevirus, niet-DENV-flaviviridae = flavivirussen anders dan denguevirus, HCV = hepatitis C-virus, YF = vaccinatie tegen gele koorts, JE = vaccinatie tegen Japanse encefalitis.

IgG-titers na vaccinatie rond de afkapwaarde van de DENV-specifieke ELISA schommelden. Vergelijkbare resultaten werden gevonden in een Duitse studie naar de IgG-kruisreactiviteit tussen TBE, JEV en DENV. Sera van acute TBE-infecties lieten veel hogere IgG-titers zien in een DENV-specifieke ELISA vergeleken met sera van TBE- en JEV-gevaccineerden. Het is bekend dat de vaccinatie-respons op flavivirussen niet altijd adequaat is. Helaas hebben wij niet de vaccinatie-respons kunnen nagaan met een virusneutralisatietest, iets wat een zwakte kan worden genoemd van onze studie. Onze studie laat echter wel zien dat een anamnese van vaccinaties tegen niet-DENV-flavivirussen geen groot probleem is in de serologische diagnostiek, mits men beschikt over een acuut en een convalescent serummonster en de anti-DENV-IgG-titer betreft bij de interpretatie van de test.

Het blijkt niet mogelijk om met de huidige generatie DENV-specifieke ELISA's onderscheid te maken tussen een doorgemaakte DENV- en niet-DENV-flavivirusinfectie op basis van IgG-antistoffen. Een goed voorbeeld hiervan is te zien in *figuur 3*, waar twee van onze malaria-positieve controles ook hoogpositief reageren in de DENV-specifieke-IgG ELISA. Denguevirus komt voor in Afrika, net als andere flavivirussen zoals gele koorts, westnijlvirus, Usutu-virus en Zika-virus. Deze bevinding laat daarmee ook de beperkingen van onze studie zien. Recente DENV-infecties werden in een aantal monsters van onze evaluatie op basis van een IgG-seroconversie geïncorporeerd. Daarbij werd ook kritisch gekeken naar de reisanamnese en beschikbare klinische informatie, maar daarmee kan niet alle onzekerheid worden weggenomen. Een Duitse studie liet zien dat tussen 9 en 19% van alle reizigers IgG heeft tegen DENV. De auteurs concludeerden dat DENV bij reiziger waarschijnlijk een onderbelicht probleem is, maar het is dus ook goed mogelijk dat een deel van deze seropositiviteit werd veroorzaakt door niet-DENV-flavivirussen.

Ondanks dat het hepatitis C-virus (HCV) ook tot de familie van *Flaviviridae* hoort, zagen wij geen fout-positieve reactiviteit als gevolg van HCV-infectie. Eerder is 25-30% fout-positiviteit in een DENV-EIA gerapporteerd ten gevolge van HCV-seropositiviteit. De auteurs merkten echter op dat zij de reisanamnese en vaccinatiehistorie van de HCV-patiënten niet kenden, waardoor de IgG-activiteit ook een teken van eerdere flavivirusexpositie zou kunnen zijn.

Conclusie

Bij een klinische verdenking op een acute DENV-infectie in reizigers met koorts heeft een combinatie van een NSI POCT en een IgM/IgG POCT een redelijke gevoeligheid van > 85% voor het vaststellen van een acute DENV-infectie. De negatiefvoorspellende waarde is echter

een probleem en bedraagt ongeveer 50%. Een convalescent monster waarin een IgG-seroconversie of -titerstijging kan worden waargenomen, blijft daarom belangrijk.

In Nederlandse reizigers is IgG-kruisreactiviteit ten gevolge van vaccinatie geen groot probleem voor de serologische diagnostiek van een acute primaire DENV-infectie mits men de anti-DENV-IgG-titer betreft bij de interpretatie; een lage titer is zeer waarschijnlijk het gevolg van een vaccinatie. Het is echter niet mogelijk om op basis van een IgG-titer in de acute fase van infectie het verschil te maken tussen expositie aan DENV- of non-DENV-flavivirussen. In het acute stadium is het hierdoor ook niet mogelijk om vast te stellen of er sprake is van een secundaire DENV-infectie of een primaire DENV bij een patiënt die eerder in contact is geweest met een ander flavivirus.

Referenties

- Gould EA, Solomon T. Pathogenic flaviviruses. *Lancet*. 2008;371:500-9.
- Honda ER, Zanchi F, Rios K, Lira E, Vieira D, Silva LH da, et al., Design and heterologous expression of dengue virus envelope protein (E) peptides and their use for serological diagnosis. *J Virol Methods*. 2012;186:55-61.
- Oceguera LF, Patiris PJ, Chiles RE, Busch MP, Tobler LH, Hanson CV. Flavivirus serology by Western blot analysis. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;77:159-163.
- Teles FR, Prazeres DM, Lima-Filho JL. Trends in dengue diagnosis. *Rev Med Virol*. 2005;15:287-302.
- Bessoff K, Phoutrides E, Delorey M, Acosta LN, Hunsperger E. Utility of a commercial nonstructural protein 1 antigen capture kit as a dengue virus diagnostic tool. *Clin Vaccine Immunol*. 2010;17:949-953.
- Lima Mda R, Nogueira RM, Schatzmayr HG, Santos FB dos. Comparison of three commercially available dengue NS1 antigen capture assays for acute diagnosis of dengue in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010;4:738.
- Wichmann O, Gascon J, Schunk M, Puente S, Siikamaki H, Gjørup I, et al., Severe dengue virus infection in travelers: risk factors and laboratory indicators. *J Infect Dis*. 2007;195:1089-96.
- Cobelens FG, Groen J, Osterhaus AD, Leentvaar-Kuipers A, Wertheim-van Dillen PM, Kager PA. Incidence and risk factors of probable dengue virus infection among Dutch travellers to Asia. *Trop Med Int Health*. 2002;7:331-8.
- Stelma FF, Galama J. Dengue. Epidemiologie, kliniek, diagnostiek en pathofysiologie. Een update. *Ned Tijdschr Med Microbiol*. 2011;19:21-6.
- WHO. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control -- New edition. 2009. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.
- Prince HE, Yeh C, Lape-Nixon M. Development of a more efficient algorithm for identifying false-positive reactivity results in a dengue virus immunoglobulin M screening assay. *Clin Vaccine Immunol*. 2008;15:1304-6.
- Niedrig M, Sonnenberg K, Steinhagen K, Paweska JT. Comparison of ELISA and immunoassays for measurement of IgG and IgM antibody to West Nile virus in human sera against virus neutralisation. *J Virol Methods*. 2007;139:103-5.
- Blacksell SD, Jarman RG, Bailey MS, Tanganuchitcharnchai A, Jenjaroen K, Gibbons RV, et al., Evaluation of six commercial point-of-care tests for diagnosis of acute dengue infections: the need for combining NS1 antigen and IgM/IgG antibody detection to achieve acceptable levels of accuracy. *Clin Vaccine Immunol*. 2011;18:2095-2101.
- Wang SM, Sekaran SD. Early diagnosis of Dengue infection using a commercial Dengue Duo rapid test kit for the detection of NS1, IgM, and IgG. *Am J Trop Med Hyg*. 2010;83: 690-5.
- Osorio L, Ramirez M, Bonelo A, Villar LA, Parra B. Comparison of the diagnostic accuracy of commercial NS1-based diagnostic tests for early dengue infection. *J Virol*. 2010;77:7-361.
- Huhtamo E, Hasu E, Uzcategui NY, Erra E, Nikkari S, Kantele A, et al., Early diagnosis of dengue in travelers: comparison of a novel real-time RT-PCR, NS1 antigen detection and serology. *J Clin Virol*. 2010;47:49-53.
- Cleton N, Koopmans M, Reimerink J, Godeke GJ, Reusken C. Come fly with me: review of clinically important arboviruses for global travelers. *J Clin Virol*. 2012;55:191-203.
- Drosten C, Gottig S, Schilling S, Asper M, Panning M, Schmitz H, et al., Rapid detection and quantification of RNA of Ebola and Marburg viruses, Lassa virus, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Rift Valley fever virus, dengue virus, and yellow fever virus by real-time reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol*. 2002;40:2323-30.
- Callahan JD, Wu SJ, Dion-Schultz A, Mangold BE, Peruski LF, Watts DM, et al., Development and evaluation of serotype- and group-specific fluorogenic reverse transcriptase PCR (TaqMan) assays for dengue virus. *J Clin Microbiol*. 2001;39:4119-24.
- Papa A, Xanthopoulou K, Gewehr S, Mourelatos S. Detection of West Nile virus lineage 2 in mosquitoes during a human outbreak in Greece. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17:1176-80.
- Fry SR, Meyer M, Semple MG, Simmons CP, Sekaran SD, Huang JX, et al., The diagnostic sensitivity of dengue rapid test assays is significantly enhanced by using a combined antigen and antibody testing approach. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011;5:21.
- Hang VT, Nguyet NM, Trung DT, Tricou V, Yoksan S, Dung NM, et al., Diagnostic accuracy of NS1 ELISA and lateral flow rapid tests for dengue sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. *PLoS Negl Trop Dis*. 2009;3:360.
- Tricou V, Vu HT, Quynh NV, Nguyen CV, Tran HT, Farrar J, et al., Comparison of two dengue NS1 rapid tests for sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. *BMC Infect Dis*. 2010;10:1471-2334.
- Blacksell SD, Jarman RG, Bailey MS, Tanganuchitcharnchai A, Jenjaroen K, Gibbons RV, et al., Evaluation of six commercial point-of-care tests for diagnosis of acute dengue infections: the need for combining NS1 antigen and IgM/IgG antibody detection to achieve acceptable levels of accuracy. *Clin Vaccine Immunol*. 2011;18:2095-2101.
- Allwinn R, Doerr HW, Emmerich P, Schmitz H, Preiser W. Cross-reactivity in flavivirus serology: new implications of an old finding? *Med Microbiol Immunol*. 2002;190:199-202.
- Allwinn R, Hofknecht N, Doerr HW. Dengue in travellers is still underestimated. *Intervirology*. 2008;51:96-100.
- Koraka P, Zeller H, Niedrig M, Osterhaus AD, Groen J. Reactivity of serum samples from patients with a flavivirus infection measured by immunofluorescence assay and ELISA. *Microbes Infect*. 2002;4:1209-15.

Diagnostiek van syfilis

C.W. Ang

Samenvatting

Syfilis is een ziekte met vele verschijningsvormen en de diagnostiek van syfilis vertoont veel overeenkomsten met de ziekte zelf. Screening op syfilis vindt de laatste jaren steeds meer plaats met grote analyzers in plaats van met de traditionele agglutinatietesten. Voor interpretatie van aanvullende testen is diepgaande microbiologische kennis over diagnostiek van syfilis onmisbaar. Voor de diagnostiek van neurosyfilis volstaat in de meeste gevallen het celgetal en een TPPA en VDRL van de liquor.

Trefwoorden

Syfilis, liquor, *Treponema pallidum*

Inleiding

Syfilis is een complexe systemische ziekte die wordt veroorzaakt door de spirocheet *Treponema pallidum*.¹ De ziekte heeft een grote impact gehad op de wereldgeschiedenis. Aan het eind van de 19^e eeuw was syfilis de meest voorkomende neurologische ziekte en veel beroemde personen zijn overleden aan neurosyfilis.

Vóór de 16^e eeuw zijn er bijna geen beschrijvingen van ziektebeelden die passen bij neurosyfilis.¹ Vanaf het einde van de 15^e eeuw raakte syfilis wereldwijd verspreid en hoewel hier veel verschillende verklaringen voor zijn, bestaan er grofweg twee theorieën.²⁻⁴ De eerste theorie stelt dat zeelieden uit het konvooi van Columbus (of zijn navolgers) de ziekte van de Nieuwe Wereld naar Europa hebben gebracht. Hier vond de bacterie een nieuwe habitat, veranderde zijn gedrag een beetje en de ziekte die op deze manier ontstond kon evolueren in wat we tegenwoordig syfilis noemen (Columbische theorie). Volgens de tweede theorie was syfilis al lange tijd aanwezig in Europa, mogelijk vanuit Centraal-Afrika, en zorgden veranderende sociale omstandigheden zoals het opkomen van stadstaten, grotere bevolkingsdichtheid en toename van handelsverkeer voor efficiëntere verspreiding van de ziekte. Een groot aantal oorlogen met bijkomende troepenverplaatsingen en wijdverbreide prostitutie droegen hier nog verder aan bij (pre-Columbische theorie).³⁻⁴

Van een algemeen voorkomende ziekte is syfilis in Nederland tegenwoordig relatief zeldzaam geworden en voornamelijk voorkomend in risicogroepen zoals homoseks-

suele mannen. Co-infecties met hiv zorgen er daarnaast voor dat de ziekte zich anders presenteert en mogelijk ook anders behandeld moet worden.⁵ In andere delen van de wereld vormt syfilis een veel groter probleem en is het terugdringen van congenitale syfilis een belangrijk doel.⁶ De diagnostiek van syfilis vindt voor het grootste gedeelte plaats in microbiologische laboratoria. Dit artikel gaat over syfilisdiagnostiek, met de nadruk op serologische diagnostiek.

Treponema pallidum microbiologie

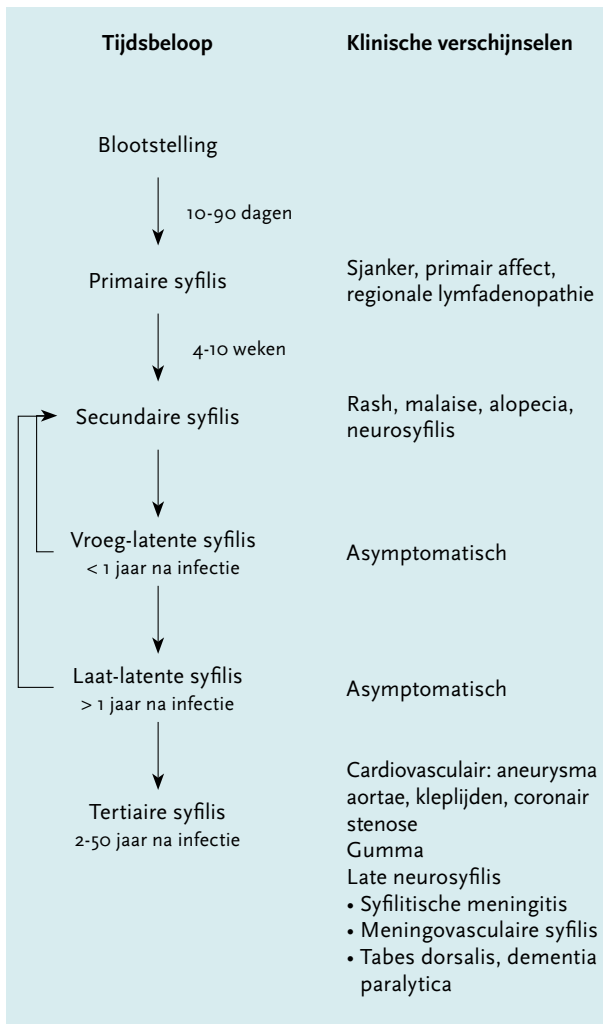
Treponema pallidum subsp. *pallidum* is lid van de familie spirocheten en is sterk verwant met andere pathogene spirocheten zoals *T. pallidum* subsp. *endemicum* (endemische syfilis, bejel), *T. pallidum* subsp. *pertenue* (yaws) en *T. carateum* (pinta).¹ De bacterie is spiraalvormig, 6 tot 15 micrometer lang en heeft een diameter van 0,2 micrometer. Door flagellen die zich in de periplasmatische ruimte bevinden kunnen treponemen zich voortbewegen. Ondanks vele pogingen is het nooit gelukt om *T. pallidum* langdurig in kweek te krijgen, wat samenhangt met de beperkte metabole capaciteit.⁷ Kweek in konijnentestes is momenteel de enige methode om aanzienlijke hoeveelheden *T. pallidum* te genereren. De celwand van *T. pallidum* heeft bijzondere eigenschappen.⁸ De buitenmembraan bevat zeer weinig eiwitten en onderzoekers houden zich al jaren bezig met de vraag hoe *T. pallidum* er in slaagt om voldoende voedingsstoffen op te nemen uit de omgeving en toch niet door het immuunsysteem wordt opgemerkt.⁹

Klinische syndromen

Syfilis wordt ingedeeld in verschillende stadia (figuur 1). Het primaire stadium (primaire affect, harde sjanker) wordt gekenmerkt door een pijnloze laesie op de plek van inoculatie. De meeste primaire laesies zijn aanwezig op de penis, labia of cervix, maar ze kunnen ook in de mond, keel of anus voorkomen. Bij hiv-positieve patiënten komen

W. Ang, afdeling Medische Microbiologie en Infectiepreventie, VU medisch centrum, Amsterdam, e-mail: w.ang@vumc.nl

Figuur 1. De verschillende stadia van syfilis.



meerdere primaire laesies voor.¹⁰ In het primaire stadium kan ook regionale lymfadenopathie voorkomen. Ongeacht of er medicamenteuze behandeling is verdwijnen primaire laesies na enkele weken.

Na 4 tot 10 weken volgt het secundaire stadium. Bij secundaire syfilis is de spirocheet gedissemineerd en kunnen patiënten manifestaties van de ziekte hebben in elk orgaan en ook hebben zij vaak algemene malaiseklachten. Een gegeneraliseerde maculopapulaire rash, kenmerkende laesies op handpalmen en voetzolen en een gegeneraliseerde lymfadenopathie zijn bijna pathognomonisch voor secundaire syfilis. Ook de verschijnselen van secundaire syfilis verdwijnen zowel met als zonder antibiotische therapie en de infectie komt in een latent stadium waarin patiënten asymptomatisch zijn.

De latente fase wordt onderverdeeld in vroeglatent (< 1 jaar na infectie) en laatlatent (> 1 jaar na infectie). Bij latente syfilis kunnen patiënten opnieuw verschijnselen van een secundaire syfilis krijgen. Bij laatlatente syfilis blijven patiënten gedurende tientallen jaren symptoomvrij.

Indien patiënten na jaren alsnog verschijnselen krijgen wordt dat tertiaire syfilis genoemd. De verschijnselen van tertiaire syfilis worden veroorzaakt door progressieve inflammatie. Voorbeelden hiervan zijn cardiovasculaire syfilis, die zich meestal uit in een aortitis, en late neurosyfilis. Dit laatste ziektebeeld is zeldzaam en kan bestaan uit dementia paralytica (hersenvreking, gepaard gaand met persoonlijkheidsveranderingen, wanen en andere globale neurologische klachten zoals duizeligheid slapeloosheid) en tabes dorsalis waarbij de achterstrengen zijn aangedaan. Een laatste manifestatie van laatlatente syfilis zijn gummata. Een gumma is een granulomateuze nodulaire laesie met centrale necrose die meestal in huid of botten voorkomt maar incidenteel ook andere organen aantast.

Congenitale syfilis is een zeldzaamheid in Nederland, mede door de zwangerschapsscreening, met een geschat aantal van nul tot vijf gevallen per jaar maar congenitale syfilis en andere complicaties van syfilis gedurende de zwangerschap komen in minder ontwikkelde landen nog vaak voor.¹¹⁻¹² Aangedane neonaten hebben een laag geboortegewicht en soms hepatitis. Op latere leeftijd zijn deze patiënten te herkennen aan een persisterende rhinitis (snuffles, veroorzaakt door invasie van *T. pallidum* in de nasale mucosa), gevolgd door rash. Gummateuze destructie van het bot en kraakbeen in neus en gehemelte zorgt voor de karakteristieke aangezichtsdeformatie. Nog later komen de afwijkende tanden voor, de zogeheten Hutchinsonson-tanden.

Geschiedenis van de diagnostiek van syfilis

Omdat syfilis al zo lang wordt herkend als omschreven klinische entiteit heeft de diagnostiek van syfilis een lange geschiedenis. Ruim 100 jaar geleden zag de Duitser Fritz Schaudinn door zijn microscoop “hele kleine vlugbewegende echte spirocheten ... verschillend van de grovere vormen die voorkomen op de slijmvliezen van de mond en geslachtsdelen”.¹³ Dit is een hele prestatie gezien de kwalitatief mindere apparatuur, het gebruik van doorvallend licht en het werken met een natief preparaat! Schaudinn en de dermatoloog Erich Hoffmann publiceerden in 1905 hun bevindingen over de *Spirochaeta pallida* (de ‘bleke spirocheet’, omdat hij zo moeilijk te zien was) en gaven daarmee het startschot voor verdere ontwikkeling van de directe detectie van *T. pallidum*.¹⁴ Later werd het microscopisch arsenaal uitgebreid met donkerveldmicroscopie en immunofluorescentie. Met de ontwikkeling van een *T. pallidum* specifieke PCR is de directe detectie nog gevoeliger geworden.¹⁵

Niet-treponemale testen

Zoals al eerder genoemd is *T. pallidum* niet of nauwelijks te kweken op artificiële voedingsbodems. De Italiaan Parodi rapporteerde in 1907 als eerste over de mogelijkheid

om konijntestes te gebruiken als groeimedium. Deze methode is tot op heden in gebruik.⁷ Rond dezelfde tijd als de ontdekking van *T. pallidum* aan het begin van de 20e eeuw experimenteerden Wassermann, Neisser en Brueck met de complementfixatietest (in 1901 ontdekt door Bordet en Gengou) als diagnostisch middel bij syfilispatiënten.¹⁶ De Duitse onderzoekers gebruikten een groot aantal materialen voor hun antigeenpreparaten. Een extract van de lever van patiëntjes met congenitale syfilis bleek het beste te werken. Later ontdekte Karl Landsteiner dat het antigeen een lipide was en helemaal geen treponemaal antigeen, en dat lipide ook voorkwam in gezonde harten, vandaar de naam cardiolipine (difosfatidylglycerol).¹⁷ De antistoffen in het bloed van syfilispatiënten reageren met cardiolipine in combinatie met lecithine en cholesterol. Op het Venereal Disease Research Laboratory (nu Treponemal Pathogenesis and Immunology Branch) van de United States Public Health Service werd een microfloculatietest ontwikkeld waarbij onder de microscoop het uitvlokken van complexen van cardiolipine/cholesterol/lecithine en antistoffen kan worden gezien.¹⁷ De test wordt nu ook nog VDRL genoemd, maar is doorontwikkeld met enkele verbeteringen (serum hoeft niet meer te worden verhit, want aan het antigeen zijn kleurstoffen of gekleurde partikeltjes toegevoegd, wat macroscopisch aflezen mogelijk maakt). De opvolgers van de VDRL gaan ook wel onder de naam 'rapid plasma reagin' (RPR, carbon partikels), reagintest (Sudan zwartgekleurd antigeen) of 'toluidine red unheated serum test' (TRUST). Al deze testen vallen onder de niet-

treponemale testen. Wat de verwarring nog groter maakt is dat fabrikanten de carbonpartikels (die dus eigenlijk bij de RPR horen) ook wel als VDRL-suspensie op de markt brengen (onder andere Oxoid). Hoewel uitgebreide vergelijkende studies ontbreken worden de uitslagen van alle niet-treponemale testen voor serum door elkaar gebruikt. Door het karakter van de test (uittitratie) is voor een betrouwbare inschatting van het titerverloop toch een gepaarde bepaling noodzakelijk.

Fout-positieve reacties komen relatief vaak voor. Het meest bekend zijn auto-immuunziekten waarbij ook antistoffen worden aangemaakt tegen lipide antigenen zoals SLE. Daarnaast komen laagpositieve VDRL-uitslagen (titers tot 1:4) voor bij acute virusinfecties, malaria, lepra, vaccinaties en bij zwangeren.¹⁷

Na behandeling moet de VDRL worden gecontroleerd en daalt de VDRL-titer in het algemeen. Bij de meeste patiënten wordt de VDRL ondetecteerbaar of is er alleen onverdund een reactie zichtbaar. Volgens de meeste protocollen moet er bij primaire en secundaire syfilis een viervoudige titerdaling zijn in de eerste zes maanden na de behandeling. Toch is er een substantieel gedeelte van de patiënten (tot 15%) waarbij de titer minder daalt.¹⁸ Zeker bij asymptomatische patiënten is de betekenis hiervan niet duidelijk en vaak wordt dan een expectatief beleid gevolgd. Bij verslechtering van de klachten, een incomplete klinische respons of bij verdenking op herinfectie wordt opnieuw behandeld. Bij latente syfilis reageert de VDRL-titer vaak niet op therapie.¹⁸



Treponemale testen

Omdat de niet-treponemale testen bij patiënten met primaire en tertiaire syfilis vaak negatief zijn werd er gezocht naar alternatieve testen die specifieke antistoffen tegen *T. pallidum* zouden aantonen. In 1949 lukte het Nichols en Mayer om met serum van syfilispatiënten de motiliteit van vers geprepareerde *T. pallidum* uit konijntestest te remmen.¹⁷ Deze immobilisatietest werd in de jaren 50 van de vorige eeuw opgevolgd door een fluorescentietest waarbij een preparaat van *T. pallidum* wordt gekleurd met patiëntserum gevolgd door een fluorescente antistof. Ter verhoging van de specificiteit wordt het serum eerst geïncubeerd met een suspensie van niet-pathogene treponemen. Deze test heet dan ook de FTAA (Fluorescent Treponemal Antibody Absorbed) en wordt nog steeds gebruikt.

De standaardisatie van treponemale testen kwam pas goed op gang met de uitvinding van treponemale testen op basis van agglutinatie. De eerste testen waren haemagglutinatie testen waarbij schapenerythrocyten werden gebruikt. Tegenwoordig zijn ook agglutinatie testen op de markt waarbij gekleurde gelatinebolletjes zijn gecoat met treponemale extracten, de TPPA (Treponema Pallidum Particle Agglutination). Deze testen worden gebruikt bij zowel serum- als liquordiagnostiek. Na een episode van syfilis blijven de treponemale testen bij de meeste patiënten levenslang positief, behalve bij de patiënten met een zogeheten 'seroreversie' (zie verderop).

Een verdere evolutie van de treponemale testen heeft geresulteerd in ELISA's met eerste ruwe bacteriële extracten en later recombinant antigenen (Tp15, Tp17, Tp44.5 en Tp47). Net als de andere serologische testen zijn er tegenwoordig zeer veel verschillende assay formats beschikbaar, variërend van klassieke 96-wells ELISA-platen (bijvoorbeeld Biokit), tot chemiluminescentie (Architect, Liaison) en multiplex flow immunoassay (Bioplex). Sinds een aantal jaar zijn ook commerciële immunoblots voor IgM- en IgG-treponemale antistoffen beschikbaar. De immunoblots worden gebruikt als confirmatietest, de IgM-blot wordt ingezet bij diagnostiek van congenitale syfilis. De huidige generatie blots bevat meestal recombinant antigenen (bijvoorbeeld INNO-LIA, Virablot). Het gebruik van recombinant antigenen in screenings- en bevestigingsassay houdt natuurlijk wel het risico in dat enerzijds patiënten niet worden gedetecteerd als zij weinig antistoffen maken tegen de recombinant antigenen of het enkele antigeen dat wordt gebruikt (fout-negatief)¹⁹ en anderzijds bij patiënten met aspecifieke antistoffen die reageren in de screeningstest, dezelfde antistoffen ook reageren met de antigenen van de bevestigingstest (fout-positief). De laatste situatie blijkt, in ieder geval bij zwangeren, regelmatig voor te komen. In het afgelopen jaar hebben we in het VUMC met de combinatie Architect-INNO-LIA -immunoblot zeven patiënten

met een positieve Architect test en een 'indeterminate' blotuitslag gehad. Al deze monsters hadden een S/CO-ratio van < 3 en vijf van de patiënten waren zwangere vrouwen. Bij vier à vijf zwangeren was de TPPA negatief, de andere vrouw had een positieve TPPA en bleek congenitale syfilis te hebben. Overigens bleek dat de meeste positieve patiënten een S/CO-waarde boven de 3 hadden op de Architect, al deze patiënten waren TPPA- en immunoblot-positief. De patiënten met een S/CO-waarde onder de 3 waren meestal TPPA- en immunoblot-negatief, behalve enkele hiv-patiënten (Ang, ongepubliceerde gegevens). Uit deze observaties blijkt dat de voorspellende waarde van een laag positieve Architect screeningstest sterk afhangt van de geteste populatie.

De nieuwste ontwikkeling zijn de Point of Care Testen (POCT).²⁰ Deze testen zijn ontwikkeld om op een laagdrempelige manier zwangere vrouwen en personen werkzaam in de seksindustrie met syfilis te identificeren, zodat transmissie (aan de foetus en daarmee congenitale syfilis) wordt voorkomen. Dit veld is sterk in ontwikkeling maar een recente meta-analyse toonde aan dat POC Testen een redelijk alternatief vormen voor TPPA of FTA-ABS en daarom geschikt zijn voor inzet in situaties waar er gebrek aan laboratoriuminfrastructuur is.²⁰

Valkuilen bij syfilisserologie

Ten eerste is het goed om te vermelden dat er tussen de Verenigde Staten en de rest van de wereld een verschil van opvatting is over de methode van diagnostiek. Tot voor kort werden de treponemale testen in de VS als inferieur gezien ten opzichte van de niet-treponemale testen vanwege hun lage specificiteit voor actieve ziekte. Als je immers met een treponemale test screent kun je antistoffen aantonen bij patiënten die jaren geleden syfilis hebben doorgemaakt en nu in de latente fase zitten, of

Tabel 1. Fout-positieve reacties bij syfilisserologie

	Non-treponemale testen (VDRL, RPR)	Treponemale testen (TPHA, TPPA, TP-ELISA)
Aspecifieke reacties	Acute virusinfecties	SLE
	Iv-drugsgebruik	
	Lepra	
	Malaria	
	Vaccinaties	
	Zwangerschap	
Reacties op basis van biologische kruisreactiviteit	Patiënten met anti-cardiolipine antistoffen	Non-venerische treponematosen
		<i>Borrelia</i>
		<i>Leptospirose</i>

bij patiënten die adequaat behandeld zijn voor syfilis. De laatste jaren zijn meer genuanceerde geluiden te horen, en heeft een van de experts op het gebied van neurosyfilis, Christina Marra, een treponemale test op liquor in haar neurosyfilis algoritme opgenomen.²¹ In ieder geval moet men bij patiënten uit de VS die negatief zijn getest voor syfilis rekening houden met de mogelijkheid dat alleen een VDRL-test en geen treponemale testen zijn gedaan.

Zoals hierboven ook al vermeld komen bij zowel de niet-treponemale testen als de treponemale testen fout-positieve uitslagen voor. Deze staan vermeld in de tabel. Een bijzondere vorm van kruisreactiviteit is die bij infecties met non-venerische treponematosen zoals *T. pallidum* subsp *pertenue* (yaws) en *T. carateum* (pinta). Geen van de treponemale testen kan onderscheid maken tussen infecties met verschillende treponemasoorten. Meestal is dat geen probleem omdat maar weinig mensen in yaws/pinta-endemische gebieden zijn geweest, maar bij patiënten uit onder andere Suriname kunnen biologisch fout-positieve testen voorkomen.

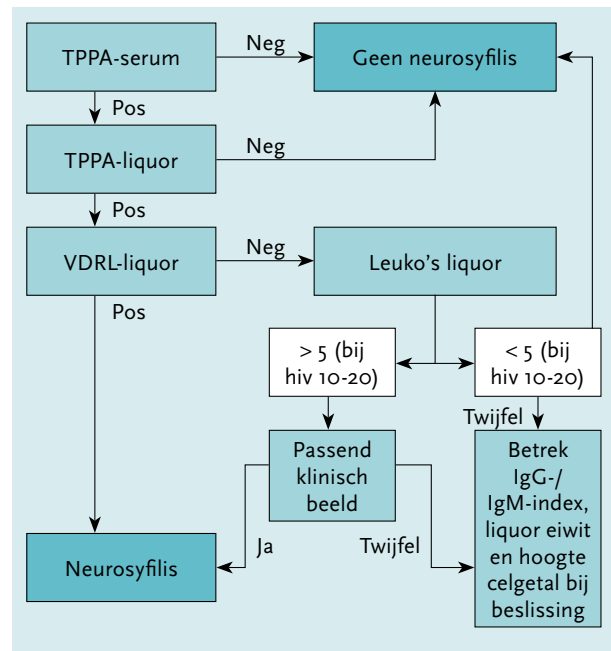
Het prozone-effect komt regelmatig voor bij de VDRL/RPR. Hierbij is de test bij lage verdunningen (onverdund of tot 1:4-8) negatief of aspecifiek maar bij hogere verdunningen vindt ineens wel agglutinatie/flocculatie plaats. De achtergrond van het fenomeen wordt niet goed begrepen, maar omdat het regelmatig voorkomt moet de screeningsverdunning van de VDRL niet te laag worden genomen. Het beste is om te beginnen met een verdunningsreeks van onverdund tot 1:8-16 om een eventueel prozone-effect te kunnen detecteren.

Een laatste bijzonderheid is het fenomeen van seroreversie. Vooral bij hiv-positieve patiënten kunnen de treponemale antistoffen ondetecteerbaar worden na adequate behandeling. Dit fenomeen komt bij meer pathogenen voor zoals hepatitis C.¹⁷ De afwezigheid van treponemale antistoffen sluit een infectie met syfilis in het verleden bij deze categorie patiënten dus niet uit.

Diagnostiek van neurosyfilis

De diagnostiek van neurosyfilis is lastig omdat er geen gouden standaard is.⁵ De meeste onderzoekers en klinici zijn van mening dat een positieve VDRL bewijzend is voor de diagnose neurosyfilis, en een negatieve FTA-ABS, TPPA of TPHA een neurosyfilis uitsluit.⁵ Naast deze antistofbepalingen is er nog een groot aantal bepalingen dat kan helpen bij het stellen van de diagnose. Het celgetal in de liquor is hierbij het belangrijkste, maar verschillende protocollen maken gebruik van IgM- en IgG-index en specifieke antistofindexen zoals de Intrathecal Treponema Pallidum Index (ITPA) of de Vienna index (TPPA-titer in liquor gedeeld door het albuminequotient).²²⁻²³ In theorie is het met deze indexen mogelijk om de intrathecale treponemale antistofproductie te onderscheiden van lekkage van treponemale antistoffen over de bloed-

Figuur 2. Algoritme voor neurosyfilis diagnostiek



hersensbarrière. Een vergelijkende studie van verschillende protocollen voor neurosyfilis toonde echter aan dat een aantal patiënten met een positieve VDRL in de liquor negatieve antistofindexen had en dat bij slechts een zeer klein aantal patiënten de Vienna-index verhoogd was.²⁴ Verder was de TPPA-index verhoogd bij een aantal patiënten die volgens geen enkel ander protocol neurosyfilis zou hebben.²⁴ Een extra bezwaar tegen het gebruik van indexen is dat in praktijk blijkt dat bijna niemand de formules doorgrondt, waardoor de interpretatie van de index rigide wordt gehanteerd, terwijl bij titerfluctuaties van slechts één stap een aanzienlijke verschuiving van de index kan worden aangetoond.

De afkapwaarde van het celgetal verschilt tussen de protocollen. Bij de meeste laboratoria wordt een celtaal van > 5 leucocyten/microliter beschouwd als verhoogd en dus als aanwijzing voor een immuunrespons tegen 'iets' in het centraal zenuwstelsel. Voor hiv-positieve patiënten moet een iets hogere afkapwaarde worden gebruikt.²¹ Een precieze waarde is moeilijk te geven omdat er weinig gegevens over zijn. De optimale cut-off ligt bij hiv-positieve patiënten tussen de 10 tot 20 leuko's/microliter.

Helaas zijn er veel discrepanties tussen neurosyfilis protocollen die deze indexen gebruiken en protocollen die alleen VDRL, TPPA/TPHA en celgetal in de liquor als parameters gebruiken. Mogelijk worden deze verschillen veroorzaakt door verschillen in methodologie want de liquor TPPA-/TPHA-titers verschillen sterk tussen verschillende studies.²²⁻²⁴ Met uitzondering van een evaluatie-rapport van een Brits referentielaboratorium zijn er geen gepubliceerde studies naar verschillen in bepaling van

TPPA versus TPHA in liquor.²⁵ Uit deze evaluatie bleek dat er nauwelijks verschil is tussen beide bepalingen. De FTA(-ABS) en syfilisblot kunnen ook worden gebruikt voor liquor, maar de FTA is lastiger af te lezen dan de TPPA en over de immunoblot is slechts één artikel verschenen.²⁶⁻²⁷ Gelukkig wordt in Nederland door een groot aantal laboratoria dezelfde test gebruikt voor het aantonen van treponemale antistoffen in liquor (Serodia TPPA), die volgens de bijsluiter overigens niet is gevalideerd voor liquor. Wij hebben deze test toch gevalideerd voor gebruik in liquor op grond van het feit dat de test al jaren naar tevredenheid worden gebruikt voor zowel serum als liquor, de test wel is gevalideerd zijn voor serum en er geen alternatief bestaat dat wel adequaat gevalideerd is voor liquor. Koreaanse onderzoekers hebben geprobeerd om de Architect te gebruiken voor het bepalen van treponemale antistoffen in de liquor, maar dit werkte niet.²⁸ Op dit moment heeft een TPPA-bepaling dus de voorkeur voor het aantonen van treponemale antistoffen in liquor. Voor de bepaling van niet-treponemale antistoffen in liquor kan naast de VDRL ook de RPR en de TRUST worden gebruikt, hoewel de RPR mogelijk een iets lagere gevoeligheid heeft.²⁹⁻³⁰ Een nieuwe ontwikkeling is de CXCL13-bepaling in liquor van patiënten verdacht van neurosyfilis.³¹ Een recente Nederlandse pilotstudie toonde aan dat verhoogde niveaus van CXCL13 kunnen voorkomen, maar de additionele waarde van chemokinebepaling in liquor is nog niet duidelijk.³² Samenvattend is voor de diagnostiek van neurosyfilis dus alleen een VDRL, TPPA en celgetal in de liquor nodig. Met deze drie parameters is het in de meeste gevallen goed mogelijk om een uitspraak te doen over de diagnose 'neurosyfilis'. Indien er een laag of grenswaarde celgetal in de liquor is, kunnen andere ontstekingsmarkers zoals IgM-, IgG-index en eiwitgehalte extra informatie geven over de mogelijkheid van een ontsteking van het centraal zenuwstelsel (figuur 2).

Referenties

- Lafond RE, Lukehart SA. Biological basis for syphilis. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19:29-49.
- Peeling RW, Hook EW. The pathogenesis of syphilis: the Great Mimicker, revisited. *J Pathol.* 2006;208:224-32.
- Rothschild BM. History of syphilis. *Clin Infect Dis.* 2005;40:1454-63.
- Tognotti E. The rise and fall of syphilis in renaissance Europe. *The journal of medical humanities.* 2009;30:99-113.
- Ghanem KG. Neurosyphilis: A historical perspective and review. *CNS Neurosci Ther.* 2010;16:157-68.
- Tucker JD, Bu J, Brown LB, Yin YP, Chen XS, Cohen MS. Accelerating worldwide syphilis screening through rapid testing: a systematic review. *The Lancet infectious diseases.* 2010;10:381-6.
- Norris SJ. In vitro cultivation of *Treponema pallidum*: independent confirmation. *Infect Immun.* 1982;36:437-9.
- Cameron CE. The *T. pallidum* outer membrane and outer membrane proteins. In: Radolf JD, Lukehart SA. *Pathogenic Treponema Molecular and Cellular Biology.* Wymondham: Caister Academic Press. 2006:237-66.
- Radolf JD, Desrosiers DC. *Treponema pallidum*, the stealth pathogen, changes, but how? *Mol Microbiol.* 2009;72:1081-6.
- Ghanem KG, Workowski KA. Management of adult syphilis. *Clin Infect Dis.* 2011;53:110-28.
- Coul EL op de, Weert JW van, Oomen PJ, et al. Prenatale screening op hiv, hepatitis B en syfilis in Nederland effectief. *Nederlands tijdschrift voor geneeskunde.* 2010;154:2175.
- Newman L, Kamb M, Hawkes S, et al. Global estimates of syphilis in pregnancy and associated adverse outcomes: analysis of multinational antenatal surveillance data. *PLoS medicine.* 2013;10:1001396.
- Mochmann H, Köhler W. *Meilensteine der Bakteriologie.* Minerva – Edition Wissen. 1997.
- Hoffmann E. *Die Ätiologie der Syphilis: Let Me Print.* 2010.
- Noordhoek GT, Wolters EC, de Jonge ME, van Embden JD. Detection by polymerase chain reaction of *Treponema pallidum* DNA in cerebrospinal fluid from neurosyphilis patients before and after antibiotic treatment. *J Clin Microbiol.* 1991;29:1976-84.
- Bialynicki-Birula R. The 100th anniversary of Wassermann-Neisser-Bruck reaction. *Clinics in dermatology* 2008;26:79-88.
- Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clin Microbiol Rev.* 1995;8:1-21.
- French P, Gomberg M, Janier M, Schmidt B, Van Voorst Vader P, Young H. IUSTI: 2008 European Guidelines on the Management of Syphilis. *International journal of STD & AIDS.* 2009;20:300-9.
- Sena AC, White BL, Sparling PF. Novel *Treponema pallidum* serologic tests: a paradigm shift in syphilis screening for the 21st century. *Clin Infect Dis.* 2010;51:700-8.
- Jafari Y, Peeling RW, Shivkumar S, Claessens C, Joseph L, Pai NP. Are *Treponema pallidum* specific rapid and point-of-care tests for syphilis accurate enough for screening in resource limited settings? Evidence from a meta-analysis. *PLoS one.* 2013;8:54695.
- Marra CM. Neurosyphilis (Up-to-Date website). www.uptodate.com. Geraadpleegd 2013 mei 1.
- Luger A, Schmidt BL, Steyrer K, Schonwald E. Diagnosis of neurosyphilis by examination of the cerebrospinal fluid. *The British journal of venereal diseases.* 1981;57:232-7.
- Prange HW, Moskophidis M, Schipper HI, Muller F. Relationship between neurological features and intrathecal synthesis of IgG antibodies to *Treponema pallidum* in untreated and treated human neurosyphilis. *J Neur.* 1983;230:241-52.
- Ang CW, Steingrover R, Kortmann W, Van Agtmael MA. Comparison of protocols for the diagnosis of neurosyphilis (abstract). *Ned Tijdschr Med Microbiol.* 2011;19:36.
- Wong HHY, Carrington D. Evaluation of Fujirebio TPPA Kit. London: Treponemal Reference Laboratory, St. George's Hospital. 1997.
- Kotnik V, Jordan K, Stopinsek S, Simcic S, Potocnik M. Intrathecal antitreponemal antibody synthesis determination using the INNO-LIA Syphilis Score. *Acta dermatovenerologica Alpina, Panonica, et Adriatica.* 2007;16:135-41.
- Marra CM, Tantaló LC, Maxwell CL, Dougherty K, Wood B. Alternative cerebrospinal fluid tests to diagnose neurosyphilis in HIV-infected individuals. *Neurology.* 2004;63:85-8.
- Park Y, Park Y, Joo SY, Park MH, Kim HS. Evaluation of a fully automated treponemal test and comparison with conventional VDRL and FTA-ABS tests. *American journal of clinical pathology.* 2011;136:705-10.
- Marra CM, Tantaló LC, Maxwell CL, Ho EL, Sahi SK, Jones T. The rapid plasma reagin test cannot replace the venereal disease research laboratory test for neurosyphilis diagnosis. *Sex Transm Dis.* 2011;39:453-7.
- Gu W, Yang Y, Wu L, Yang S, Ng LK. Comparing the performance characteristics of CSF-TRUST and CSF-VDRL for syphilis: a cross-sectional study. *BMJ open.* 2013;3.
- Marra CM, Tantaló LC, Sahi SK, Maxwell CL, Lukehart SA. CXCL13 as a cerebrospinal fluid marker for neurosyphilis in HIV-infected patients with syphilis. *Sex Transm Dis.* 2010;37:283-7.
- Van der Velden LBJ, Verbeek MM, Koopmans PP, Ang W, Stelma FF. CXCL13 in CSF of HIV-positive patients suspected of neurosyphilis (abstract). *Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie.* 2013;142.

Xin chào!

M.E. Kolader

Ruim een jaar geleden keerde ik met mijn gezin terug uit Ho Chi Minh City, Vietnam. Daar heb ik bij de Oxford University Clinical Research Unit (OUCRU, www.oucru.org) van juli 2011 tot en met juli 2012 een deel van de opleiding medische microbiologie gedaan.

Het opzetten van een klinische studie was mijn voornaamste doel. Daarnaast heb ik meegekeken op de klinische bacteriologie-afdeling van het Hospital for Tropical Diseases (HTD) en liep ik mee met klinische rondes op verschillende afdelingen. Ik heb hier tevens meegewerkt aan (online) virtuele labrondes met vier andere laboratoria in Vietnam en het Academisch Medisch Centrum (AMC) in Amsterdam en vooral kreeg ik de kans om een jaar onderdeel uit te maken van een dynamisch klinisch onderzoeksinstituut.

Oxford University Clinical Research Unit

De OUCRU-Vietnam bestaat uit twee klinische onderzoeksinstituten: één in Hanoi en één in HCMC (Ho Chi Minh City, *figuur 1*), met dochterunits in Jakarta (Indonesië), Shantou (China) en Kathmandu (Nepal). Beide zijn verbonden met de Universiteit van Oxford in Engeland. De OUCRU HCMC is gevestigd op het terrein van HTD (500 bedden), het referentiecentrum voor infectieziekten voor het zuiden van Vietnam met 40 miljoen inwoners en er is een nauw samenwerkingsverband tussen beide. In de periode dat ik er was waren er in de OUCRU onderzoekers uit Vietnam, Engeland, Schotland, Ierland, Nederland, Australië, Bangladesh, Spanje, Oostenrijk en de Verenigde Staten werkzaam.

Door mijn eigen buitenlandervaringen als kind en later als geneeskundestudent, voelde ik me zeer aangetrokken tot het doel van de OUCRU, te vinden op hun website: "The unit's strategic aim is to have a positive and significant impact on global health and, in particular, the prevention, diagnosis and treatment of infectious diseases. This is being achieved via an integrated long-term research programme, contributions to training, the scientific literature, national and international meetings and membership of national and international committees. Priority is given to health issues important to the hospital, the city and the whole of Vietnam. All work is intended not only to benefit the patients seen daily at HTD, but also to help improve patient care throughout the country".

Figuur 1. Hospital for Tropical Diseases.



In alle facetten van de dagelijkse organisatie zag ik dit doel terugkomen, en meer nog in de grote onderzoeklijnen, namelijk dengue, malaria, tuberculose (meningitis), emerging viral infections waaronder enterovirus 71 en H5N1 influenzavirus, zoonotische infecties, hiv en hiv-gerelateerde infecties, infecties van het centraal zenuwstelsel en gastro-enteritis. Studies en projecten worden gefinancierd middels de 'core-funding' van de OUCRU zelf, een programme grant van de Wellcome Trust (www.wellcome.ac.uk) en middels andere persoons- en projectgebonden funding, waarvan ook een deel van de Wellcome Trust afkomstig is.

Gedurende mijn verblijf in Vietnam heb ik de kans gekregen om een kleine steen bij te dragen aan de OUCRU door onderzoek te doen naar een mogelijke aanvullende therapie voor een veelvoorkomende infectie: acute waterige diarree bij kinderen. Ik heb gewerkt aan het opzetten van een klinische studie naar het effect van probiotica in vergelijking met een placebo bij 300 kinderen die vanwege milde tot matige dehydratie bij acute waterige diarree opgenomen werden in HTD of Children's Hospital 2, ook gelegen in HCMC. Het gebruik van probiotica in Vietnam en andere Aziatische landen is wijdverspreid en verschillende preparaten worden standaard door artsen voorgeschreven. Dit terwijl effecten alleen beschreven zijn

voor bepaalde indicaties, specifieke preparaten, doseringen en duur van gebruik. Daarbij zijn er meerdere publicaties die discrepanties aantonen tussen de informatie op het etiket en de daadwerkelijke inhoud van het preparaat. Onjuiste naamgeving en het ontbreken van of juist het aantonen van extra micro-organismen waren de voornaamste bevindingen. Ter ondersteuning van het klinische onderzoek heb ik ook een evaluatie gedaan naar de inhoud van 15 commerciële probiotica die over-the-counter verkrijgbaar waren bij apotheken in HCMC.

Hospital for Tropical Diseases

De afdelingen van HTD (figuur 2), zoals de paediatric ICU, adult ICU en de malaria ward zijn gehuisvest in een aantal gebouwen op het ziekenhuisterrein en worden omringd door bomen en gras waar bezoekers, patiënten en werknemers lopen, zitten, in hangmatten een middagdutje doen en op parkeerplaatsen volleybal spelen; een beetje rust en ontspanning tussen alle drukte en hectiek van de stad en het drukke ziekenhuis.

Bijna dagelijks liepen we met onderzoekers van de OUCRU, waarvan de meesten een klinische achtergrond hebben, een klinische ronde tezamen met de artsen van de afdeling. Op gezette tijden liepen er ook internationale geneeskundestudenten mee. De malaria ward is de afdeling waar patiënten liggen met centraal zenuwstelselinfecties, variërend van *Streptococcus suis* meningitis, eosinofiele meningo-encefalitis en tuberculeuze meningitis tot cerebrale malaria, cryptococcken meningitis, dengue, Japanse encefalitis en – de meerderheid – encefalitis e.c.i.

Naast rondes op de malaria ward waren er rondes op de paediatric ICU in de tijd dat de kinderafdelingen vol lagen met patiëntjes met hand-foot-mouth disease

Figuur 2. Het gebouw van de Oxford University Clinical Research Unit, Ho Chi Minh City.



(HFMD). Naar schatting werden in de periode dat ik er was meer dan 120.000 kinderen met de diagnose HFMD opgenomen in ziekenhuizen verspreid over heel Vietnam. Deze epidemie begon in 2011 en duurde nog voort ten tijde van mijn vertrek in juli 2012. Tijdens deze periode werden er veel meer kinderen (doorgaans jonger dan twee jaar) opgenomen met ernstige HFMD, en met name een groter aantal kinderen met neurologische complicaties dan in de jaren daarvoor. Ernstige HFMD wordt in Vietnam, en in de gehele regio, meestal veroorzaakt door enterovirus 71. Deze grote landelijke epidemie heeft onder andere geleid tot het opzetten van een specifiek HFMD-onderzoeksprogramma binnen de emerging viral infections-groep.

Klinische bacteriologie en virtuele labrondes

Het klinische bacteriologielaboratorium van HTD is gesitueerd op de begane grond van het OUCRU-gebouw waar de standaard bacteriologische kweken werden uitgevoerd. Identificatie van positieve kweken werd uitgevoerd met behulp van API's en gevoeligheidsbepalingen met behulp van diskdiffusie en E-testen. In 2012 is een Vitek 2 in gebruik genomen en ik begreep dat ook over de aanschaf van een Maldi-TOF-apparaat werd nagedacht. De rol van de klinisch bacterioloog als consultant voor de behandeling van infectieziekten, het antibioticabeleid en ziekenhuishygiëne in Vietnam is niet zoals in Nederland. Het huidige hoofd van het laboratorium is een van de weinige gespecialiseerde klinisch microbiologen in Vietnam; ze volgde een opleiding microbiologie in Australië en is fulltime verantwoordelijk voor het klinische bacteriologielaboratorium, aangezien in veel ziekenhuizen een arts alle laboratoria bestiert. Door de afwezigheid van de rol van de klinisch bacterioloog ondervond ze voorheen vaak onbegrip bij het doorbellen van kweekresultaten en het bijbehorende advies, omdat behandelend artsen gewend waren zelfstandig het beleid te bepalen en zo nodig aan te passen.

Tijdens dat jaar was ik betrokken bij het project Telemicrobiologie waarin onder andere virtuele labrondes werden gehouden tussen het lab in HTD, het AMC in Amsterdam en drie andere sites in Vietnam, waaronder perifere ziekenhuizen. Met behulp van een speciaal daartoe ontwikkelde camera werden foto's gemaakt van bijzondere kweken of van kweken behorend bij een bijzondere casus die naar een website geüpload werden en via Skype werden besproken tussen de sites.

Thảo Điền

Het leven buiten de OUCRU was ook vol nieuwe indrukken. Tijdens mijn studentenperiode ben ik een aantal keer naar het buitenland verhuisd, maar verhuizen met een gezin met kleine kinderen (bij vertrek vier jaar en negen maanden oud) was toch wel even wat anders. De voorbereiding en wenperiode daar waren een stuk

Figuur 3. Ho Chi Minh City, gezien vanaf Tháo Điên, district 2.



langer dan ik in mijn eentje gewend was. Wij woonden in HCMC in Tháo Điên, een wijk met een mooie mengeling van Vietnamese en expatbewoners, op de 22^e verdieping van een groot appartementencomplex met fantastisch uitzicht over de stad (figuur 3); niet te vergelijken met onze maisonnettewoning in Amsterdam-Noord. Het wonen in een stad met 10 miljoen inwoners met een andere taal en cultuur waarin familie(waarden), leeftijd en hiërarchie een grote maatschappelijke plaats innemen was bijzonder. Bijzonder was ook het moment dat ik als buitenstaander eindelijk het Vietnamese (brommer)verkeer doorgrond had en mij voor het eerst per brommer door HCMC durfde te verplaatsen! Mijn man heeft als muzikant met meerdere coverbands kunnen optreden, onze dochter leerde daar vloeiend engels spreken op een internationale school en onze zoon liep in dat jaar HFMD op plus twee keer een salmonella gastro-enteritis, en kwam terug met een voorliefde voor pistoletjes (bánh mì) en rijst. Het was bij uitstek een leerzame, indrukwekkende en bijzondere periode voor mij bij de OUCRU en voor ons in Vietnam.

VERKORTE PRODUCTINFORMATIE CANCIDAS® 50 mg poeder voor concentraat voor oplossing voor intraveneuze infusie. CANCIDAS® 70 mg poeder voor concentraat voor oplossing voor intraveneuze infusie. **Samenstelling** CANCIDAS 50 mg bevat 50 mg caspofungin (als acetaat). CANCIDAS 70 mg bevat 70 mg caspofungin (als acetaat). **Indicaties** • Behandeling van invasieve candidiasis bij volwassen patiënten of kinderen. • Behandeling van invasieve aspergillose bij volwassen patiënten die niet reageren op amfotericine B, toedieningsvormen van amfotericine B met lipiden en/of itraconazol of deze niet verdragen. • Empirische therapie voor vermoede schimmelinfecties (zoals *Candida* of *Aspergillus*) bij volwassen patiënten of kinderen met koorts en neutropenie. **Contra-indicaties** Overgevoeligheid voor het actieve bestanddeel of één van de hulpstoffen. **Waarschuwingen en voorzorgen** De werkzaamheid van caspofungine tegen de minder vaak voorkomende niet-*Candida*-gisten en niet-*Aspergillus*-schimmels is niet vastgesteld. Bij gelijktijdig gebruik van CANCIDAS met ciclosporine werden geen ernstige bijwerkingen aan de lever opgemerkt. Sommige gezonde volwassen vrijwilligers die ciclosporine samen met caspofungine kregen, vertoonden een voorbijgaande verhoging van het alaninetransaminase (ALT) en aspartaattransaminase (AST) van minder dan of gelijk aan 3 maal de bovenste waarde van het normale bereik (ULN), die bij stopzetting van de behandeling verdween. CANCIDAS kan gebruikt worden bij patiënten die ciclosporine krijgen als de mogelijke voordelen opwegen tegen de potentiële risico's. Zorgvuldige controle van de leverenzymen moet worden overwogen als CANCIDAS en ciclosporine gelijktijdig worden gebruikt. Bij een matige leverfunctiestoornis wordt een verlaging van de dagelijkse dosis naar 35 mg aanbevolen. Er is geen klinische ervaring met ernstige leverinsufficiëntie of bij kinderen met elke mate van leverinsufficiëntie. Te verwachten valt dat de blootstelling hoger is dan bij matige leverinsufficiëntie; bij deze patiënten moet CANCIDAS voorzichtig worden toegepast. De gegevens over de veiligheid van een behandeling die langer duurt dan 4 weken zijn beperkt. **Bijwerkingen** **Volwassen patiënten** Flebitis was in alle patiëntpopulaties een vaak gemelde lokale bijwerking op de injectieplaats. Andere lokale reacties waren erythem, pijn/ gevoeligheid, jeuk, afscheiding, en een brandend gevoel. De gemelde klinische en laboratoriumafwijkingen bij alle met CANCIDAS behandelde volwassenen waren over het algemeen licht en maakten zelden stopzetting noodzakelijk. De volgende bijwerkingen zijn gemeld: [Zeer vaak ($\geq 1/10$), Vaak ($\geq 1/100$ tot $< 1/10$), Soms ($\geq 1/1.000$ tot $< 1/100$)] Vaak: verlaagd hemoglobine, verlaagd hematocriet, verminderd aantal leukocyten, hypokaliëmie, hoofdpijn, flebitis, dyspnoe, misselijkheid, diarree, braken, verhoogde leverwaarden (AST, ALT, alkalische fosfatase, direct en totaal bilirubine), uitslag, pruritus, erythem, hyperhidrose, artralgie, koorts, rillingen, pruritus op infusieplaats. Soms: anemie, trombocytopenie, coagulopathie, leukopenie, verhoogd aantal eosinofielen, verminderd aantal trombocyten, verhoogd aantal trombocyten, verminderd aantal lymfocyten, verhoogd aantal leukocyten, verminderd aantal neutrofielen, vochtophoping, hypomagnesiëmie, anorexia, gestoorde elektrolytenbalans, hyperglykemie, hypocalciëmie, metabole acidose, angst, desoriëntatie, slapeloosheid, duizeligheid, dyspnoe, paresthesie, slaperigheid, tremoren, hypoesthesie, oculaire icterus, wazig zien, oedeem van het ooglid, verhoogde traanvorming, palpitations, tachycardie, aritmieën, atriumfibrilleren, hartfalen, tromboflebitis, flushing, opvliegers, hypertensie, hypotensie, verstopte neus, faryngotarygeale pijn, tachypnoe, bronchospasmen, hoest, paroxysmale dyspnoe 's nachts, hypoxie, ronchi, wheezing, buikpijn, pijn in de bovenbuik, droge mond, dyspepsie, last van de maag, opgezwollen buik, ascites, constipatie, dysfagie, vinderigheid, cholestaese, hepatomegalie, hyperbilirubinemie, geelzucht, gestoorde leverfunctie, hepatotoxiciteit, leveraandoening, erythema multiforme, maculaire uitslag, maculopulpaire uitslag, pruritische uitslag, urticaria, allergische dermatitis, generaliseerde pruritus, erythematuze uitslag, generaliseerde uitslag, morbiliforme uitslag, huidafesie, rugpijn, pijn in extremiteiten, botpijn, spierzwakte, myalgie, nierfalen, acuut nierfalen, pijn, pijn rond catheter, vermoedheid, koud gevoel, warm gevoel, erythem op infusieplaats, verharding op infusieplaats, pijn op infusieplaats, zwelling op infusieplaats, flebitis op infusieplaats, perifeer oedeem, gevoeligheid, ongemak op de borst, pijn op de borst, aangezichtsoedeem, gevoel van andere lichaamstemperatuur, verharding, extravasatie op infusieplaats, irritatie op infusieplaats, flebitis op infusieplaats, uitslag op infusieplaats, urticaria op infusieplaats, erythem op infusieplaats, oedeem op infusieplaats, pijn op infusieplaats, zwelling op infusieplaats, malaise, oedeem. **Onderzoeken:** Vaak: verlaagd kalium in bloed, verlaagd bloedalbumine. Soms: verhoogd bloedcreatinine, positief voor rode bloedcellen in urine, verlaagd totaal eiwit, eiwit in urine, verlengde protrombinetijd, verkorte protrombinetijd, verlaagd natrium in bloed, verhoogd natrium in het bloed, verlaagd calcium in bloed, verhoogd calcium in bloed, verlaagd chloride in bloed, verhoogd glucose in bloed, verlaagd magnesium in bloed, verlaagd fosfor in bloed, verhoogd fosfor in bloed, verhoogd ureum in bloed, verhoogd gamma-glutamyltransferase, verlengde geactiveerde partiële tromboplastinetijd, verlaagd bicarbonaat in bloed, verhoogd chloride in bloed, verhoogd kalium in bloed, verhoogde bloeddruk, verlaagd urinezuur in bloed, bloed in urine, afwijkende ademgeluiden, verlaagd kooldioxide, verhoogde concentratie immunosuppressivum, verhoogde INR, cilindres in urinesediment, positief op witte bloedcellen in urine, en verhoogde pH van urine. **Kinderen** Het algehele veiligheidsprofiel van CANCIDAS bij kinderen is over het algemeen vergelijkbaar met dat bij volwassenen. **Zeer vaak:** koorts. **Vaak:** verhoogd aantal eosinofielen, hoofdpijn, tachycardie, flushing, hypotensie, verhoogde leverenzymen (AST, ALT), uitslag, pruritus, rillingen, pijn op de injectieplaats. **Onderzoeken:** Vaak: verlaagd kalium, hypomagnesiëmie, verhoogd glucose, verlaagd fosfor en verhoogd fosfor. **Post-marketinggegevens** Sinds de introductie van het product zijn de volgende bijwerkingen gemeld: leverfunctiestoornis, zwelling en perifeer oedeem, hypercalciëmie. **Farmacotherapeutische groep** Antimycotica voor systemisch gebruik, ATC-code: J02 AX 04. **Afleverstatus UR Verpakking** CANCIDAS 50 mg is beschikbaar in een verpakking met 1 injectieflacon. CANCIDAS 70 mg is beschikbaar in een verpakking met 1 injectieflacon. **Vergoeding** CANCIDAS wordt volledig vergoed. Raadpleeg de volledige productinformatie (SPC) voor meer informatie over CANCIDAS. Merck Sharp & Dohme BV Waarderweg 39 2031 BN Haarlem Tel.: 0800-9999000 www.msd.nl **Cancidas**® (caspofungine, MSD)

Verkorte productinformatie ECALTA (september 2012). De volledige productinformatie (SPC van 23 augustus 2012) is op aanvraag verkrijgbaar. **Samenstelling:** ECALTA bevat 100 mg anidulafungin per injectieflacon, overeenkomend met een 3,33 mg/ml oplossing na reconstitutie met water voor injecties. De verdunde oplossing bevat 0,77 mg/ml anidulafungin. **Indicaties:** Behandeling van invasieve candidiasis bij volwassen niet-neutropenische patiënten. ECALTA is hoofdzakelijk onderzocht bij patiënten met candidemie en slechts bij een beperkt aantal patiënten met diepgelegen Candida infecties of met abcesvorming. **Farmacotherapeutische groep:** Antimycotica voor systemisch gebruik, andere antimycotica voor systemisch gebruik, ATC-code: JO2 AX 06. **Dosering:** De behandeling met ECALTA moet worden uitgevoerd door een arts die ervaring heeft met de behandeling van invasieve schimmelinfecties. De eenmalige aanvangsdosis van 200 mg dient op dag 1 te worden toegediend, daarna gevolgd door dagelijks 100 mg. Er zijn onvoldoende gegevens beschikbaar om een behandeling van langer dan 35 dagen met de 100 mg dosis te onderbouwen. De veiligheid en werkzaamheid van ECALTA bij kinderen jonger dan 18 jaar zijn niet vastgesteld. Op basis van de momenteel beschikbare gegevens kan geen doseringsadvies worden gedaan. Het wordt aanbevolen om ECALTA toe te dienen met een infusiesnelheid die niet hoger is dan 1,1 mg/minuut (overeenkomend met 1,4 ml/minuut wanneer gereconstitueerd en verdund conform instructies). ECALTA mag niet worden toegediend als een bolusinjectie. **Contra-indicaties:** Overgevoeligheid voor het werkzame bestanddeel of voor één van de hulpstoffen; overgevoeligheid voor andere geneesmiddelen uit de groep van echinocandinen. **Waarschuwingen en voorzorgen:** De werkzaamheid van ECALTA bij neutropenische patiënten met candidemie en bij patiënten met diepgelegen Candida infecties of intra-abdominaal abces en peritonitis is niet vastgesteld. De klinische werkzaamheid is hoofdzakelijk beoordeeld bij niet-neutropenische patiënten met *C. albicans* infecties en bij een kleiner aantal patiënten met niet-*albicans* infecties, voornamelijk *C. glabrata*, *C. parapsilosis* en *C. tropicalis*. Patiënten met Candida-endocarditis, -osteomyelitis of -meningitis en bekende *C. krusei* infectie zijn niet onderzocht. Verhoogde waarden van leverenzymen zijn waargenomen bij gezonde personen en patiënten die met anidulafungin werden behandeld. Bij een aantal patiënten met een ernstige onderliggende medische aandoening die gelijktijdig meerdere geneesmiddelen kregen naast anidulafungin, zijn klinisch significante leverafwijkingen opgetreden. Gevallen van significante leverstoornis, hepatitis en leverfalen kwamen soms voor tijdens klinische onderzoeken. Bij patiënten met verhoogde leverenzymen tijdens behandeling met anidulafungin dient te worden gecontroleerd op tekenen van verslechterende leverfunctie en dient het risico/voordeel van voortzetting van behandeling met anidulafungin geëvalueerd te worden. Anafylactische reacties, waaronder shock, zijn gemeld bij het gebruik van anidulafungin. Indien deze reacties voorkomen, dient de behandeling met anidulafungin te worden stopgezet en dient passende behandeling te worden gegeven. Infusiegerelateerde bijwerkingen zijn gemeld bij het gebruik van anidulafungin, waaronder uitslag, urticaria, blozen, pruritus, dyspnoe, bronchospasmen en hypotensie. Infusiegerelateerde bijwerkingen komen weinig voor wanneer de snelheid waarmee anidulafungin wordt geïnjecteerd niet hoger is dan 1,1 mg/minuut. In een onderzoek bij ratten is verergering van infusie-gerelateerde reacties door gelijktijdige behandeling met anesthesica waargenomen waarvan de klinische relevantie onbekend is. Men dient voorzichtig te zijn bij het gelijktijdig toedienen van anidulafungin en anesthesica. Patiënten met een zeldzame erfelijke fructose-intolerantie dienen dit geneesmiddel niet te gebruiken. **Bijwerkingen:** Bijwerkingen in klinische studies waren meestal licht tot matig en leidden zelden tot stopzetting van de behandeling. De meest gerapporteerde, vaak voorkomende bijwerkingen ($\geq 1/100$ tot $< 1/10$) zijn: coagulopathie, convulsies, hoofdpijn, diarree, braken, misselijkheid, verhoogd creatininegehalte in het bloed, uitslag, pruritus, hypokaliëmie, flushing, verhoogde alanineaminotransferase, verhoogde alkalische fosfatase in het bloed, verhoogde aspartaat-aminotransferase, verhoogd bilirubine in het bloed, verhoogde gamma-glutamyltransferase. Soms ($\geq 1/1000$, $< 1/100$) zijn waargenomen: pijn in de bovenbuik, urticaria, hyperglykemie, hypertensie, opvliegers, pijn op de infusieplaats, cholestaese. Bijwerkingen uit spontane meldingen met frequentie niet bekend (kan met de beschikbare gegevens niet worden bepaald) zijn: anafylactische shock, anafylactische reactie (zie "Waarschuwingen en voorzorgen"), hypotensie, bronchospasmen, dyspnoe. **Afleveringsstatus UR. Verpakking en Registratienummer:** ECALTA 100 mg poeder voor concentraat voor oplossing voor intraveneuze infusie: EU/1/07/416/002 (1 injectieflacon met 100 mg poeder). **Vergoeding en prijzen:** ECALTA wordt vergoed volgens de Beleidsregel dure geneesmiddelen in ziekenhuizen*. Voor prijzen wordt verwezen naar de Z-index tax. **Voor medische informatie over dit product belt u met 0800-MEDINFO (8334636).** **Registratiehouder:** Pfizer Limited, Ramsgate Road, Sandwich, Kent CT13 9NJ, Verenigd Koninkrijk. **Neem voor correspondentie en inlichtingen contact op met de lokale vertegenwoordiger: Pfizer bv, Postbus 37, 2900 AA Capelle a/d IJssel.**

1. Reboli AC et al: Anidulafungin Study Group. Anidulafungin versus fluconazole for invasive candidiasis. New England Journal of Medicine 2007;356(24):2472-82. * 2. Glöckner et al. Treatment of invasive candidiasis with echinocandines. Mycoses. 2009 Nov;52(6):476-86. 3. Ecalt 2011 Summary of Product Characteristics 4. Stichting Werkgroep Antibiotica (SWAB). Optimaliseren van het antibioticabeleid in Nederland XII. SWAB-richtlijnen voor de behandeling van invasieve schimmelinfecties. September 2008. 5. Joseph J.M et al: Anidulafungin: a drug evaluation of a new echinocandin; Expert Opin Pharmacother. 2008 Sep;9(13):2339-48.

*In deze studie werd anidulafungin-IV vergeleken met fluconazol-IV bij 245 patiënten met invasieve candidiasis. Het primaire eindpunt was globale respons (microbiologisch en klinisch) aan het eind van de IV-behandelperiode.



12ECL219

Regulatoire aspecten bij de ontwikkeling van antibiotica voor multiresistente bacteriën (2)

A. Vollaard, B. Voordouw

In *NTMM 3* (september) werd geschetst hoe de standaardbenadering van het eisen van twee gerandomiseerde gecontroleerde studies per ziekte-indicatiebelemmerend kan werken op de ontwikkeling van nieuwe antibiotica. Zo werden voor registratie van ceftaroline (Zinforo®) meer dan 2500 patiënten met huid- en wekedeleninfecties (SSTI) en community acquired pneumonia (CAP) onderzocht. Hoewel ceftaroline in vitro affiniteit heeft voor PBP2a, kreeg het niet de indicatie MRSA-infecties door het uitsluiten van MRSA in de CAP-studie, en het feit dat van de 330 MRSA-patiënten in de SSTI-studie 62% een abces had (waarbij incisie belangrijker is dan antibiotische behandeling).

Voor multidrugresistente (MDR) bacteriën bestaat juist behoefte aan meer behandelopties: door het toenemend resistentieprobleem vallen er meer dan 25.000 doden per jaar volgens ECDC-berekeningen. De mortaliteit bij hematologische maligniteiten ten gevolge van ESBL-gramnegatieven ligt 25% hoger dan bij patiënten zonder zo'n bacteriëmie.¹ De vrees bestaat dat oncologische chemotherapeutische opties worden belemmerd doordat opportunistische infecties (bij neutropenie en mucositis) met MDR-bacteriën uiteindelijk niet meer adequaat zijn te behandelen.²

De standaardbenadering (gebaseerd op resultaten van empirische therapie versus indicatiegebied) voor studies met nieuwe antibiotica voldoet niet bij MDR-bacteriën. Dit komt onder meer door de beperkingen in de diagnostiek om MDR-bacteriën snel te onderscheiden van gevoelige bacteriën, terwijl empirische therapie niet kan wachten. Vervolgens is het lastig per orgaansysteem c.q. per indicatie voldoende aantallen patiënten met die specifieke MDR-infectie te includeren voor studies. Ook combinatie-therapie bij start van empirische antibiotische therapie bemoeilijkt de evaluatie van de specifieke bijdrage van een pathogeenspecifiek antibioticum, wat kan leiden tot onvoldoende gegevens voor registratie.

Het is dus belangrijk de belemmerende factoren aan te pakken, om de ontwikkeling van nieuwe antibiotica voor MDR-bacteriën te stimuleren. Twee initiatieven zijn daarvoor opgezet: het 10 x '20 initiatief van de Infectious Diseases Society of America³ en het New Drugs 4 Bad Bugs-programma vanuit het Europese Innovative

Medicines Initiative.⁴ Nieuw daarin zijn 'public-private partnerships' waarbij financiering van ontwikkelings-trajecten door verschillende partijen gedragen zal worden. Ook de farmaceutische industrie denkt vooruit over de wijze waarop voor MDR-infecties toch een onderbouwing kan worden verkregen die zou volstaan voor registratie.⁵ Zo wordt een trapsgewijze benadering voorgesteld, gebaseerd op de ernst van de medische behoefte ('unmet medical need'), die resulteert in vier mogelijkheden: a) de huidige standaardbenadering met bewijs uit twee fase-III-studies per indicatie; b) een pathogeenspecifieke benadering met data uit kleine vergelijkende studies met rond de 300 patiënten gecombineerd met historische data en vooral veel preklinische data (farmacodynamiek, diermodellen, farmacokinetiek bij patiënten); c) een tussenvorm waarbij één fase-III-studie klinische onderbouwing moet opleveren; d) een model waarbij alleen diermodellen worden gebruikt, omdat klinische data niet zijn te verkrijgen of niet ethisch zijn te verwerven (bijvoorbeeld anthrax).

De EFPIA (European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations) denkt dat hiermee de kosten voor ontwikkeling kunnen worden gereduceerd, waarmee een financiële prikkel voor consortia ontstaat, met een snellere registratie tot gevolg. Een probleem is wel de onderbelichte veiligheid in een dergelijk ontwikkelings-traject. Dus geneesmiddelenbewaking na registratie (farmacovigilantie) wordt dan van groter belang om naast effectiviteit de veiligheid van patiënten in het dagelijks gebruik te monitoren.

Ook de FDA heeft recent de behoefte aan ontwikkeling van betere antibiotica bij een hoge medische noodzaak verwoord.⁶ Als mogelijke opties worden genoemd het 'verrijken' van onderzoekspopulaties met MDR-bacteriële infecties, door te kiezen voor specifieke landen of door het ontwerpen van kleinere superioriteitsstudies voor

A. Vollaard, klinisch beoordelaar anti-infectiva, FT4, CBG, internist-infectioloog LUMC.

Correspondentieadres: B. Voordouw, klinisch senior speerpunt-beoordelaar, anti-infectiva, farmacotheapeutische groep. IV, CBG; AIOS medische microbiologie LUMC, e-mail: ac.voordouw@cbg-meb.nl.

MDR-bacteriën binnen een grotere studie van een nieuw middel t.o.v. optimale standaardtherapie ('nested superiority design'). Ook het gebruik van externe of historische controles, extrapolatie van resultaten bij nog behandelbare infecties naar situaties van hoge medische noodzaak ('unmet medical need') met ruimere statistische marges en de acceptatie van andere surrogaateindpunten worden genoemd. Daarbij zijn 300 patiënten een minimum voor enig inzicht in veiligheid.

De focus van de FDA ligt dus nog altijd sterk op het klinisch bewijs, terwijl het andere voorstel veel sterker naar preklinische data neigt bij 'unmet medical need'. Ook in Europa is de EMA (European Medicines Agency) bezig deze ontwikkelingen met regelgeving tegemoet te komen, onder meer door de vereisten van een PK/PD-pakket te omschrijven. Hoewel er op dit moment nog geen eenduidige richtlijnen zijn, probeert men dichter bij een kader daarvoor te komen, onder meer door overleg met 'stakeholders' op 8 november 2013 in Londen.⁷

Referenties

1. Kang CI et al. Risk factors for infection and treatment outcome of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bacteremia in patients with hematologic malignancy. *Ann Hematol.* 2012;91(1):115-21.
2. Bow EJ. There should be no ESCAPE for febrile neutropenic cancer patients: the dearth of effective antibacterial drugs threatens anticancer efficacy. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(3):492-5.
3. Infectious Diseases Society of America. The 10 X '20 initiative: pursuing a global commitment to develop 10 new antibacterial drugs by 2020. *CID* 2010;50:1081-3.
4. COMBACTE initiative: <http://www.imi.europa.eu/content/combacte>.
5. Rex JH, Eisenstein BI, Alder J, et al. A comprehensive regulatory framework to address the unmet need for new antibacterial treatments. *Lancet Infect Dis.* 2013;13 (3):269-75.
6. FDA, Guidance for Industry. Antibacterial therapies for patients with unmet medical need for the treatment of serious bacterial diseases. Draft Guidance, July, 2013. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM359184.pdf>.
7. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Agenda/2013/09/WC500150603.pdf

Verkorte productinformatie Dificlir® 200 mg (januari 2013)

Samenstelling: elke filmomhulde tablet bevat 200 mg fidaxomicine.

Farmacotherapeutische groep: Antidiarreemiddelen, intestinale anti-inflammatoire/anti-infectiemiddelen, antibiotica, ATC-code: A07AA12.

Therapeutische indicaties: Behandeling van *Clostridium difficile*-infecties (CDI), ook wel *C. difficile*-geassocieerde diarree (CDAD) genoemd. Er dient rekening te worden gehouden met officiële richtlijnen betreffende het juiste gebruik van antibacteriële middelen.

Dosering en wijze van toediening: 200 mg (één tablet) tweemaal daags (om de 12 uur), oraal, gedurende 10 dagen. Dificlir kan met of zonder voedsel worden ingenomen.

Contra-indicaties: Overgevoeligheid voor het werkzame bestanddeel of voor één van de hulpstoffen.

Waarschuwingen en voorzorgen bij gebruik: Dificlir dient met voorzichtigheid gebruikt te worden bij patiënten met ernstig verminderde nierfunctie, matig-ernstig verminderde leverfunctie, pseudomembraneuze colitis, inflammatoire darmziekte en fulminante of levensbedreigende CDI.

Interacties: Gelijktijdige toediening van potente P-gp inhibitors waaronder ciclosporine, ketoconazol, erytromycine, claritromycine, verapamil, dronedarone en amiodaron wordt niet aanbevolen.

Bijwerkingen: De volgende bijwerkingen deden zich vaak ($\geq 1/100$ tot $< 1/10$) voor: misselijkheid, braken, obstipatie. In de volledige SPC tekst worden de soms voorkomende bijwerkingen gemeld.

Afleverstatus: UR.

Volledige productinformatie is op aanvraag verkrijgbaar bij:

Astellas Pharma B.V.
Sylviusweg 62
2333 BE Leiden
PO Box 344
2300 AH Leiden
phone: +31(0)71 545 57 45
fax: +31(0)71 545 58 00

DIFICLIR
fidaxomicine

 **astellas**
Leading Light for Life

'Optimizing *Chlamydia trachomatis* and *Treponema pallidum* diagnostics

L. van Dommelen

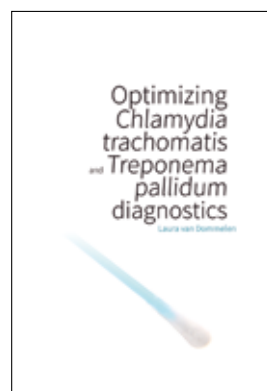
Op 31 oktober jl. is Laura van Dommelen gepromoveerd aan de Universiteit Maastricht door verdediging van het proefschrift 'Optimizing *Chlamydia trachomatis* and *Treponema pallidum* diagnostics' (promotoren: prof. dr. C.J.P.A. Hoebe en prof. dr. C.A. Bruggeman, copromotor: dr. F.H. van Tiel).

Bij vrouwen vindt detectie van *Chlamydia trachomatis* (Ct) meestal plaats op een zelf afgenomen vaginale uitstrijk met PCR. Solitaire urineweginfecties met Ct kunnen worden gemist. Er is onderzocht of het combineren van een vaginale uitstrijk met urine in één monster resulteert in een hogere Ct-detectie ten opzichte van een solitaire vaginale uitstrijk. Dit bleek niet het geval. Tevens is gekeken naar verschillende Ct-sneltesten als mogelijk alternatief voor PCR. De sneltesten kunnen 'point of care' worden uitgevoerd en geven binnen 30 minuten een uitslag. De gevoeligheid van de verschillende sneltesten was dramatisch slecht: de gevoeligheid van de minst goede test was slechts 12%. Bovendien waren de sneltesten lastig te interpreteren.

Naast Ct-detectie komt ook typering aan bod. In het proefschrift is de sensitiviteit van Ct Detection and genoTyping Kit (Ct-DT) vergeleken met de COBAS Amplicor CT/NG. De sensitiviteit bleek vergelijkbaar. In respectievelijk 97 en 93% van de gevallen kon de serogroep en serovar worden bepaald. De Ct-DT heeft als voordeel dat er gebruik wordt gemaakt van twee targets (op plasmide en Omp1-gen), waardoor ook stammen zonder plasmide en bijvoorbeeld de Zweedse variant (swCT) kunnen worden gedetecteerd. Ten behoeve van detectie van de swCT beschrijft het proefschrift ook de ontwikkeling van een specifieke TaqMan-assay. In de swCT is er een 377 bp-deletie in het plasmide. Aangezien de meeste commerciële PCR-methoden zijn gericht op dit sequentiegebied, werd deze stam niet opgepikt en kon deze zich zo ongebreideld verspreiden. De ontwikkelde TaqMan-assay is gericht op het gebied links en rechts van de deletie en is uitgevoerd op 87 Nederlandse en 152 materialen uit St. Petersburg (Rusland). In geen van deze materialen is de swCT aangetoond, terwijl de (Zweedse) controlestammen wel alle werden gedetecteerd.

In een aantal van de bovenstaande studies is ingevroren materiaal gebruikt. De vraag rees of de resultaten die verkregen zijn met 'vers' materiaal, vergelijkbaar zijn met de resultaten die zijn verkregen op materiaal dat maanden tot jaren is ingevroren. 'Gespiked' en bekend Ct-positief materiaal is daarom op verschillende temperaturen opgeslagen en op verschillende momenten in triplo getest, tot twee jaar na opslag. De gevonden resultaten na twee jaar ondersteunen het gebruik van ingevroren materialen voor de (moleculaire) testevaluaties.

Het tweede deel van het proefschrift beschrijft *Treponema pallidum* (Tp)-diagnostiek. De detectie van antilichamen tegen Tp vond bij aanvang van de verschillende studies plaats met een handmatige agglutinatietest. Er is vervolgens onderzoek gedaan naar de sensitiviteit van een sneltest en verschillende ELISA's voor de detectie van Tp-antilichamen, waarvan de laatste uitgevoerd kunnen worden op een geautomatiseerd systeem. Omdat er bij deze evaluaties gebruik is gemaakt van een geselecteerde collectie sera, is retrospectief (na implementatie van een van de ELISA's) onderzocht of de resultaten overeenkwamen met de initiële evaluatie. De specificiteit zoals bepaald in de retrospectieve evaluatie bleek vergelijkbaar. Samengevat is in dit proefschrift de diagnostiek van Ct en Tp van verschillende kanten belicht. Goede diagnostische testen en de juiste interpretatie ervan zijn een belangrijke tool bij SOA-bestrijding. Met het onderzoek in dit proefschrift is een bijdrage geleverd aan de verbetering van de SOA-diagnostiek.



Abstracts Najaarsvergadering NVMM / VIZ 2013

Multidisciplinair Antimicrobial Stewardship in het UMCG

J.R. Lo-Ten-Foe¹, B. Sinha¹, K.R. Wilting¹, Y. Kyuchikova¹, P.N. Panday², J.H. Dik¹, R. Hendrix³, A.W. Friedrich¹

¹Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Universitair Medisch Centrum Groningen, Groningen, ²Klinische Farmacie en Apotheek, Universitair Medisch Centrum Groningen, Groningen, ³Laboratorium voor Infectieziekten, Groningen

Naar aanleiding van het SWAB visiedocument uit 2012 is het UMCG van start gegaan met de stapsgewijze implementatie van een Antibiotic Stewardship-Team (A-Team). De werkwijze van het A-Team is gebaseerd op een zogenaamde dag-2-bundel. Deze gaat uit van een automatisch verzonden e-mailalert aan alle A-Teamleden vanuit de ziekenhuisapotheek. Een alert wordt verzonden wanneer een patiënt op de afdeling twee dagen onafgebroken een antibioticum toegediend heeft gekregen. Een of meerdere A-Teamleden gaan naar de afdeling en bespreken de antimicrobiële therapie van de geselecteerde patiënt met de dienstdoende arts(en). Microbiologische diagnostiek wordt meegenomen in het overleg. Wanneer nodig, wordt de therapie geoptimaliseerd. Resultaten van een eerste pilot op de afdeling Traumatologie zijn bekend. Op een tweede afdeling (Urologie) is inmiddels ook gestart met deze bed-side consultaties. Op de afdeling traumatologie werd bij 75% van de besproken patiënten de therapie veranderd. Bij 19% van de patiënten bleek er geen indicatie te zijn voor antibiotica en werd deze gestopt. Bij 7% werd de dosering aangepast. Bij 33% werd een aanpassing van de therapieduur afgesproken. In 15% van de consulten werden patiënten besproken waar geen e-mailalert van was, maar die spontaan naar voren werden gebracht door de dienstdoende arts(en). Na deze positieve resultaten is gestart met eenzelfde methode op een afdeling Urologie. Hier zijn vergelijkbare resultaten te zien van aangepaste therapieën. Een consult duurt gemiddeld 15 minuten en directe (personele) kosten zijn 94 euro. De resultaten laten de importantie zien van een bed-side consultatie en de verwachting is dat deze werkwijze grote bijdragen kan leveren aan optimaal antibioticagebruik.

Data zijn gedeeltelijk eerder gepresenteerd op het regionale congres 'Infection Prevention by deploying A-teams: Alleviation or Obligation?' op 11 oktober op het Universitair Medisch Centrum Groningen te Groningen.

Evaluatie van drie separate kweekafnames voor detectie van vancomycine-resistente *Enterococcus faecium* (VRE)

E.R. Heddemma, J. Diederren, Y. Kraat, D.W. van Dam
Medische Microbiologie & Infectiepreventie, Orbis Medisch Centrum, Sittard-Geleen

Meerdere kweekafnames zouden nodig zijn voor het aantonen van vancomycine-resistente *Enterococcus faecium* (VRE) -dragerschap. Een minimum van vijf kweekafnames wordt vaak geadviseerd. Naar aanleiding van een VRE-uitbraak werd contactonderzoek verricht. Vanwege de verwachte kosten/baten is in ons ziekenhuis gekozen voor drie kweekafnames. Een evaluatie van de opbrengst van deze aanpak wordt gegeven. Na ontslag van een afdeling met VRE-besmetting werden patiënten opgeroepen en via een VRE-poli driemaal gekweekt op VRE. Deze patiëntenpopulatie is voor deze vraagstelling gekozen omdat deze populatie geen blootstelling meer heeft aan VRE. Na afname in een vloeibaar afnamemedium werd de gehele inhoud separaat en aselektief aangekweekt in Trypton Soya Bouillon. Na overnachtingincubatie werd hierop een multiplex VanA/B PCR uitgevoerd na geautomatiseerde DNA extractie. PCR-positieve monsters werden afgeënt op chromogene VRE-agar (Oxoid) en geïdentificeerd middels Vitek en aanvullende Vancomycine Etest. Van 1 juli 2013 tot 30 september 2013 werden 4265 monsters getest bij 1568 patiënten. 1267 werden driemaal getest. In negen gevallen werd VRE aangetoond (0,71%). Bij zes patiënten waren alle drie de kweken positief. Bij drie patiënten waren twee van de drie testen positief. Bij geen enkele patiënt werd in slechts één van de drie een VRE gevonden. Bovenstaande testresultaten geven aan dat in onze populatie na twee kweekafnames alle VRE positieve patiënten gedetecteerd werden. Een derde kweekafname gaf geen meeropbrengst. Gezien kostenbeheersing moet duidelijkheid komen wat betreft de hoeveelheid af te nemen VRE-kweken voordat iemand negatief bevonden kan worden.

New StaphSR kit for fast MRSA detection on the BDMax system

R. Jansen, W. A. van der Reijden, C. Nguyen
Regional Laboratory Haarlem, Haarlem, the Netherlands

It is common practice to check with PCR high risk patients for the presence of MRSA before they enter the hospital

ward. The BDMax instrument performs the MRSA PCR directly on clinical material allowing a short time to result. The current BDMax MRSA test is not able to detect all MRSA strains, and therefore the culture of MRSA is still needed to identify MRSA strains with rare SCCmec elements. The current BDMax MRSA kit will be replaced by the StaphSR kit that is able to detect six additional SCCmec variants, and uses *nucA* and *mecA/C* to detect respectively *S. aureus* and methicilin resistance. In this report, we present the data of a comparison between the MRSA and StaphSR kit and culture on the 2013 QCMD MRSA panel and 84 clinical samples. The StaphSR detected all QCMD samples correctly, while the MRSA kit missed a *mecC* sample. In the 84 clinical samples, both the StaphSR and MRSA kit detected 7 samples positive from 4 patients. The culture was able to confirm 6 of the 7 samples. One sample remained negative in the MRSA culture. The StaphSR kit detected both *nucA* and *mecA/C* in 11 SCCmec negative samples. This is indicative for MRSA carrying a rare SCCmec element, but none of the samples were culture positive. We conclude that the StaphSR kit for the BDMax performs well for the detection of MRSA in clinical samples and opens the possibility to detect MRSA with rare SCCmec elements as well as SCCmec elements without *mecA/C* gene.

Gonorrhoe in de stad Den Haag

M. Knoester¹, D. Spitaels², J.M. Brand³, C.L. Jansen³, E.P.M. van Elzaker⁴, M.A. Leversteijn-Van Hall⁵, A.A. Demeulemeester⁶, A.T. Bernards¹, J.E. van Steenbergen⁷
¹Medische Microbiologie, Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden, ²Infectieziektenbestrijding, GGD Hollands Midden, Den Haag, ³Medische Microbiologie, Medisch Centrum Haaglanden, Den Haag, ⁴Medische Microbiologie, Haga Ziekenhuis, Den Haag, ⁵Medische Microbiologie, Bronovo Ziekenhuis, Den Haag, ⁶Medische Microbiologie, Stichting Huisartsen Laboratorium, Etten-Leur, ⁷Infectieziekten, Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden

De acht centra voor seksueel overdraagbare aandoeningen (soa) in Nederland bieden soa-diagnostiek aan hoogrisicogroepen. Deze hoogrisicopatiënten worden hierdoor bereikbaar voor primaire en secundaire preventie. Surveillance op basis van deze cijfers kan echter tot een overschatting van incidentie en vindpercentage van soa leiden.

Het doel van deze studie was tweeledig. Ten eerste, het in kaart brengen van de incidentie en het vindpercentage van gonorrhoe (GO) in de stad Den Haag, niet alleen op basis van de data van het soa-centrum maar ook met gegevens van de vier lokale ziekenhuizen en het huisartsenlaboratorium. Ten tweede, evalueren of op basis van postcodegebieden een risico-inschatting kan worden gemaakt op het voorkomen van GO. De laboratoria werd

verzocht anoniem aan te leveren: alle GO-aanvragen en uitslagen van 2011 van patiënten woonachtig in Den Haag (postcode 2500-2599), en per patiënt de viercijferige postcode en aanvragend specialisme. In 2011 waren van de 24.110 GO-aanvragen er 478 positief (incidentie ~1/1000 inwoners, vindpercentage 2%). Van alle aanvragen werd 34% gedaan door het soa-centrum, 40% door huisartsen en 22% door gynaecologen. De vindpercentages betroffen respectievelijk 3,4%, 1,5% en 0,4%. De positieve uitslagen waren afkomstig uit 52 verschillende postcodegebieden, met 1 tot 20 GO-diagnoses per postcode. Er waren 10 postcodes met een relatief hoge incidentie, voornamelijk wijken met inwoners van lagere sociaaleconomische klasse. Concluderend overschat de regionale surveillance gebaseerd op data van het soa-centrum het werkelijke vindpercentage door de selectieve patiëntenpopulatie. Postcodegebieden kunnen een bijdrage leveren aan de risico-inschatting op GO, en een nieuw handvat voor preventie bieden.

Human respiratory syncytial virus infection is modulated by *Streptococcus pneumoniae* in vitro and in vivo

D.T. Nguyen¹, R. Louwen², G. van Amerongen¹, K. Lemon³, A. Luijendijk², K.E.M. Elberse⁴, A.D.M.E. Osterhaus¹, W.P. Duprex⁵, R.L. de Swart¹

¹Department of Viroscience, Erasmus MC, Rotterdam, the Netherlands, ²Department of Medical Microbiology and Infectious Diseases, Erasmus MC, Rotterdam, the Netherlands, ³Department of Microbiology, Queen's University of Belfast, United Kingdom, ⁴National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven, the Netherlands, ⁵Department of Microbiology, Boston University, Boston, USA

Human respiratory syncytial virus (HRSV) and *Streptococcus pneumoniae* are important causative agents of respiratory infections around the world. The burden for HRSV and *S. pneumoniae* is highest in the pediatric population. Almost all infants are infected by HRSV before the age of two years, but only a small proportion develops severe disease. Bacterial pathogens such as *S. pneumoniae* can often be cultured from children hospitalized with HRSV. Interactions between viral and bacterial pathogens have been described both *in vitro* and *in vivo*, but causal relationships are poorly understood. *S. pneumoniae* has the ability to colonize the human nasopharynx without manifestation of disease. We have investigated whether *S. pneumoniae* colonization modulates HRSV infection, using a new recombinant subgroup B HRSV strain that expresses enhanced green fluorescent protein (EGFP): rHRSV^{B05}EGFP. Ten *S. pneumoniae* serotypes obtained from colonized children were obtained from a large cohort study. We have used primary well-differentiated normal human bronchial epithelial cells with tight-junctions

and cilia. Using this *in vitro* model we identified four HRSV-enhancing *S. pneumoniae* serotypes. Subsequently, cotton rats were colonized intra-nasally by one of the enhancing serotypes. Three days later the animals were intra-nasally infected with HRSV. Two *S. pneumoniae* serotypes enhanced HRSV infection *in vivo* as evidenced by significantly increased virus titers in the nasopharynx as compared to mock-colonized animals. These results suggest that *S. pneumoniae* may play a role in transmission of HRSV. In conclusion we show that *S. pneumoniae* colonization can modulate HRSV infection and spread *in vitro* and *in vivo*.

Data have partially been presented at European Congress of Virology, September 2013

Moleculaire detectie van carbapenemase-producerende bacteriën binnen 24 uur: voorkom verspreiding in het ziekenhuis

R.H.T. Nijhuis¹, N.M. Hanemaaijer², B.J. Slotboom¹, E.M. Mascini¹, A.A. van Zwet¹

¹Medische Microbiologie en Medische Immunologie, Rijnstate, Velp, ²Medische microbiologie, Radboudumc, Nijmegen

Wereldwijd neemt de prevalentie van carbapenemase-producerende bacteriën (CPB) snel toe, waarbij in enkele landen CPB reeds endemisch voorkomen. In Nederland is de prevalentie laag en zijn CPB alleen gevonden in enkele casussen en sporadisch een ziekenhuisuitbraak.

Om verspreiding in het ziekenhuis te voorkomen worden patiënten met (verdenking op) CPB in isolatie verpleegd. Hier beschrijven we de toepassing van een nieuwe screenings strategie voor de detectie van patiënten die gekoloniseerd zijn met CPB binnen 24 uur.

Bij elke risicopatiënt (conform de WIP-richtlijn BRMO) wordt een rectum- en keelwab afgenomen, welke overnacht worden geïncubeerd in zowel een ertapenemals een ceftazidimebouillon. Na incubatie wordt van het geïsoleerde DNA de Check-MDR CARBA real time PCR (Check-Points, Wageningen, Nederland) verricht, die de meest voorkomende carbapenemase-genen KPC, NDM, OXA-48, VIM en IMP detecteert. Met deze methode zijn tussen maart 2012 en april 2013 454 patiënten gescreend, bij zes patiënten (1,3%) werd CPB aangetoond. Viermaal betrof het een OXA-48 en tweemaal een KPC, met meropenem MIC's variërend van 0,75 - >32 mg/l. Deze zes patiënten zijn opgenomen geweest in ziekenhuizen in landen waar CPB endemisch voorkomt, namelijk Marokko (2), Italië, Griekenland, Jordanië en Egypte.

Deze screeningsmethode vormt een belangrijke aanvulling op het huidige infectiepreventie beleid van ons ziekenhuis. De invoering hiervan maakt het mogelijk om snel en nauwkeurig kolonisatie van patiënten met CPB vast te stellen en vervolgens door het instellen van isolatiemaatregelen verdere verspreiding te voorkomen.

Acquisition of strains producing ESBLs or carbapenemases, or resistant to quinolones during travel to foreign countries

E.A. Reuland¹, G. Sonder², N. al Naiemi^{1,3,4}, A. Koek¹, G.B. Linde², T.J.W. van der Laar¹, C.M.J.E. Vandenbroucke-Grauls¹, A.P. van Dam^{2,5}

¹Medical Microbiology and Infection Control, VU University Medical Center, Amsterdam, ²Infectious Diseases, GGD, Amsterdam, ³Laboratory for Medical Microbiology and Public Health, Enschede, ⁴Microbiology and Infection Control, Ziekenhuisgroep Twente, Almelo, ⁵Medical Microbiology, Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, Amsterdam, the Netherlands

We studied the prevalence and risk factors for travel-related acquisition of ESBL-producing Enterobacteriaceae (ESBL-E), ciprofloxacin resistance and carbapenemases. From 432 participants a questionnaire and rectal swab were obtained pre- and posttravel. Data from 419 persons were included in the ESBL analysis and from 401 persons in the ciprofloxacin resistance analysis (only samples negative before travel were included). Swabs were cultured in broth containing ampicillin and subcultured on selective agar plates for detection of ESBL, and on plates with a ciprofloxacin disc. Species identification and susceptibility testing were performed with the Vitek-2 system (Biomérieux). ESBL production was assessed according to the national guideline. All isolates were subjected to ertapenem Etest. ESBL and carbapenemase genes were characterized by PCR and sequencing (BaseClear). 123/401 (30.7%) travelers acquired a ciprofloxacin-resistant strain and 98/419 (23.4%) travelers became ESBL-positive. Of the 98 ESBL-positive isolates (95 *Escherichia coli*), 39% were resistant to gentamicin, 45% to ciprofloxacin, and 70% to co-trimoxazole; 20% were resistant to all of these. ESBL-encoding genes comprised 3 *bla*_{CTX-M-17}, 50 *bla*_{CTX-M-15}, 16 *bla*_{CTX-M-14/18} and 10 *bla*_{CTX-M-27}. One carbapenemase (OXA-48) producing strain was found in a participant after a visit to Egypt. Univariate analysis showed that Eastern Asia (OR 2.6, 1.3-5.5 95% CI) and South-Central Asia (OR 5.4, 3.0-10.0 95% CI) were high-risk areas for ESBL acquisition. Also travellers' diarrhea (OR 1.8, 1.2-2.9 95% CI) or antimicrobial use (OR 2.9, 1.2-6.9 95% CI) were significant. Travelling is an important source for the acquisition of *Enterobacteriaceae* resistant to cephalosporins, quinolones and, at present rarely, carbapenems.

The risk of chronic Q fever in rheumatoid arthritis patients with and without anti-TNF α therapy

T. Schoffelen¹, L.M. Kampschreur², S.E. van Roeden², P.C. Wever³, A.A. den Broeder⁴, M.H. Nabuurs-Franssen⁵, T. Sprong³, L.A.B. Joosten¹, P.L.C.M. van Riel⁶, J.J. Oosterheert², M. van Deuren¹, M.C.W. Creemers⁷

¹Department of Internal Medicine, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, ²Department of Internal Medicine and Infectious Diseases, University Medical Centre

Utrecht, Utrecht, ³Department of Medical Microbiology and Infection Control, Jeroen Bosch Hospital, 's-Hertogenbosch, ⁴Department of Rheumatology, Sint Maartenskliniek, Nijmegen, ⁵Department of Medical Microbiology and Infectious Diseases, Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, Nijmegen, ⁶Department of Rheumatology, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, ⁷Department of Rheumatology, Jeroen Bosch Hospital, 's-Hertogenbosch

During the recent Dutch Q fever epidemic, many individuals became infected with the intracellular bacterium *Coxiella burnetii*. Initial infection is often asymptomatic, but can be complicated by chronic Q fever in 1-5% of cases, months to years later. We examined whether rheumatoid arthritis (RA) patients on anti-tumor necrosis factor α (anti-TNF α) therapy are at increased risk for chronic Q fever. RA patients, living in the Q fever endemic area, were screened for anti-*C. burnetii* antibodies in two cohorts: 1. RA patients on anti-TNF α therapy and 2. anti-TNF α naive RA patients. Patients with phase I and/or II IgG titres \geq 1:32 were defined as seropositives, indicating previous exposure to *C. burnetii*. Chronic Q fever was diagnosed by a team of medical specialists.

We found that 57/361 (15.8%) patients on anti-TNF α therapy were seropositive, compared to 55/398 (13.8%) anti-TNF α naive patients ($P=0.47$). 10/112 (8.9%) seropositive patients were diagnosed with chronic Q fever: 7/57 (12.3%) patients on anti-TNF α therapy and 3/55 (5.5%) anti-TNF α naive patients (RR 2.25; 95% CI 0.61–8.27, $P=0.32$). Univariate analysis in all seropositive patients identified higher age, cardiac valvulopathy/prosthetic valve or aneurysm/vascular prosthesis and corticosteroid use as significant risk factors for chronic Q fever.

In conclusion, the prevalence of chronic Q fever in seropositive RA patients was higher (8.9%) than previously reported in infected individuals in the general population, suggesting that patients with RA are at risk for development of chronic Q fever. However, we found no significant additional risk of anti-TNF α therapy.

These data have been presented at the European Congress of Rheumatology (EULAR) in June 2013. Intermediate results were presented at the Najaarsdagen 2012 of the Nederlandse Vereniging voor Reumatologie (NVR)

Diagnosis of hepatitis E virus infections in the Netherlands

A.T.R. Tholen¹, R. Molenkamp², J. Schinkel², C.W. Ang¹
¹Medical Microbiology & Infectiepreventie, VUMC, Amsterdam, ²Medical Microbiology, Department of Clinical Virology, AMC, Amsterdam

Recent studies indicate that 20% of Dutch blood donors have evidence for past infection with hepatitis E virus

(HEV). However, the low number of published HEV infections indicates under diagnosis. We investigated whether HEV is a cause of acute hepatitis in patients from a Dutch academic centre and which diagnostic modality (serology or PCR) should be used.

Serum samples were selected from non-severely immune-compromised patients, suspected of having an infectious hepatitis. Criteria were: elevated alanine aminotransferase (ALAT > 34 U/l) and request for antibody testing for CMV, EBV or hepatitis A (HAV).

All samples were tested for HEV using (ELISA, Wantai) and PCR (ORF 3). 91 patients were tested, of which 21% were HEV IgG positive. Only one serum was IgM positive. Surprisingly, the PCR showed, instead of one like IgM, two positive results. One had a positive HEV IgM/IgG response and the other was HEV IgM negative/IgG positive. Evidence for recent infection, other than HEV, was found in CMV 14%, EBV 10% and HAV 3%.

We conclude that although numbers are small, HEV may be a cause of clinical- acute hepatitis. Moreover, in our study population the prevalence of acute HAV (3%) was almost similar to HEV (2%). Taking that into account, we propose to incorporate HEV testing in 'hepatitis panels'. Negative results obtained for HEV IgM in HEV PCR positive patient, shows that antibody testing alone may not be sufficient. The findings on HEV IgG seropositivity confirm earlier epidemiological studies.

Borrelia Elispot: a promising tool for diagnosing Lyme disease

T. van Gorkom¹, D. Ismail¹, W. Voet², S.U.C. Sankatsing³, J. Bouwman⁴, B. Vlaminckx⁵, S.F.T. Thijsen

¹Department of Medical Microbiology and Immunology, Diaconessenhuis, Utrecht, the Netherlands, ²Department of Neurology, Diaconessenhuis, Utrecht, the Netherlands, ³Department of Internal Medicine, Diaconessenhuis, Utrecht, the Netherlands, ⁴Institute for Life Sciences & Chemistry /University of Applied Sciences Utrecht, Utrecht, the Netherlands, ⁵Department of Medical Microbiology and Immunology, St Antonius Hospital, Nieuwegein, the Netherlands

Lyme disease is difficult to diagnose since conventional serology is unable to differentiate between active disease and previous infection and use of culture and PCR is of limited value. To gain more insight in disease activity the cellular immune response could be helpful. T-cells are activated during infection by *Borrelia* antigens to produce interferon- γ . Using the enzyme-linked immunospot assay (*Borrelia* Elispot), peripheral blood mononuclear cells of 92 healthy volunteers, 12 patients who have been treated for neuroborreliosis (NB) and 12 patients with acute NB were tested and results were compared with conventional

serology. No differences were found between healthy, seropositive volunteers and acute NB patients using serology. Most of the treated NB patients had negative serology (81.8%). One out of 7 healthy volunteers with a serological scar had a positive *Borrelia* Elispot result (14.3%), 4 treated NB patients (33.3%) and 8 acute NB patients (66.7%) had positive *Borrelia* Elispot results. A positive *Borrelia* Elispot was based on having 4 spots or more, which was calculated using a Receiver Operating Curve (value 0.785). Worth noticing is that an association was found between positive *Borrelia* Elispot results and reported complaints in treated NB patients suggesting an ongoing immune response. To conclude: *Borrelia* Elispot might be able to differentiate between seropositive healthy volunteers (in majority negative) and (treated) NB patients (in majority positive). These results are promising for more adequate diagnosis of Lyme disease, but more patients need to be included.

Next Generation Sequencing for strain typing and detection of resistance genes: performance of a new commercial method in the context of an outbreak of ESBL-producing *Escherichia coli*

J. Veenemans¹, I.T. Overdeest¹, E. Snelders¹, I. Willemsen¹, Y. Hendriks¹, A. Rolfe³, A. Pettersson², J.A.J.W. Kluytmans^{1,2}

¹Laboratory for Microbiology and Infection Control, Amphia Hospital Breda, the Netherlands; ²Department for Medical Microbiology and Infection control, VU University Medical Center, Amsterdam, the Netherlands; ³Pathogenica, Boston, USA

Next Generation Sequencing (NGS) has the potential to provide typing results and detect resistance genes in a single assay, thus guiding timely treatment decisions and allowing rapid tracking of transmission of resistant clones. We evaluated the performance of a new NGS assay (Hospital Acquired Infection BioDetection System [HAI], Pathogenica, USA) during an outbreak of ESBL producing *Escherichia coli* ST131 in a nursing home in the Netherlands.

The assay was performed on 56 isolates collected during two consecutive prevalence surveys (March and May 2013). Typing results were compared to those AFLP, whereby we visually assessed the agreement of the HAI phylogenetic tree with clusters defined by AFLP. A micro-array (Checkpoints, the Netherlands) was used as the gold standard for detection of resistance genes.

AFLP identified a large cluster of 30 indistinguishable isolates on two adjacent wards, indicating clonal spread. The HAI phylogenetic tree showed that all isolates of this outbreak cluster were strongly related, while the further arrangement of the tree also largely agreed with other clusters defined by AFLP, and with epidemiological data. The HAI-assay accurately detected resistance genes in all but two isolates (sensitivity 96%), but it was unable to discriminate between ESBL and non-ESBL TEM and SHV beta-lactamases, or to specify CTX-M genes by group.

In this collection of *E. coli* isolates, the HAI-assay accurately identified the outbreak cluster. The assay is useful to screen samples for the presence of resistance genes, but detection of TEM and SHV genes requires confirmation by an additional test.

Moleculaire diagnostiek

Onder redactie van dr. E. van Pelt-Verkuil en dr. W.B. van Leeuwen

Beide auteurs zijn afkomstig van het Lectoraat Innovatieve Moleculaire Diagnostiek en het Centrum Bioscience en Diagnostiek van Hogeschool Leiden en kunnen buigen op jarenlange ervaring in het onderwijs aan HLO-studenten en laboratoriummedewerkers. Bovendien heeft dr. W.B. van Leeuwen jarenlang gewerkt als moleculair bioloog in het Erasmus MC, met als belangrijkste aandachtsgebied de (innovatie van) moleculaire diagnostiek. Samen met de gastschrijvers worden in deze tweede druk van het boek achtergronden beschreven van alle technieken die momenteel worden gebruikt binnen de moleculaire diagnostiek.

Sinds de uitgave van de eerste druk van "Moleculaire Diagnostiek" in 2001 zijn de beschikbare technieken exponentieel gegroeid. Waren in het begin van deze eeuw PCR en hybridisatie belangrijk, nu is real time-PCR niet meer weg te denken uit de diagnostische laboratoria en zijn sequenties, microarrays, DNA-chips en zelfs spectroscopische technieken toegevoegd aan het diagnostisch arsenaal.

De auteurs hebben gekozen voor een indeling in theoretische hoofdstukken waarin de achtergronden duidelijk en helder worden besproken. Deze hoofdstukken worden afgewisseld met hoofdstukken over (inmiddels geïmplementeerde) toepassingen die zijn geschreven door deskundigen in de betreffende vakgebieden.

Het boek begint bij de basis. Nucleïnezuren, primers en probes en principes van PCR worden besproken, gevolgd door DNA-sequencing en microarrays. Het hoofdstuk over de toepassing van bio-informatica bij sequencing en microarrays had hier mooi op aangesloten; dit onderdeel is echter als laatste in het boek geplaatst. In hoofdstuk 5 en 6 wordt zeer uitgebreid aandacht besteed aan optimalisatie, validatie, implementatie en kwaliteitsborging van moleculair-diagnostische technieken in het algemeen en PCR in het bijzonder. Uiteraard een zeer belangrijk onderdeel van de dagelijkse werkzaamheden binnen de moleculaire diagnostiek.

In de daaropvolgende hoofdstukken wordt dieper ingegaan op de verschillende toepassingsgebieden van moleculaire technieken; parasitaire infecties, virale infecties, pathologie, klinische chemie en klinische genetica.

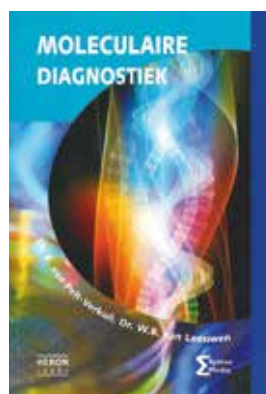
Een hoofdstuk over bacteriële infecties (alhoewel dit in hoofdstuk 12 grotendeels wordt goedge maakt) en een overzicht van toepassingen in de mycologie ontbreken hier. Tussendoor is er een hoofdstuk over het gebruik van biofysische methoden binnen de moleculaire diagnostiek en uiteraard ontbreekt een (inmiddels alweer achterhaald?) hoofdstuk met een blik op nieuwe ontwikkelingen in en de toekomst van moleculaire diagnostiek niet.

Het boek eindigt met uitstapjes naar onze collega's van forensisch DNA-onderzoek en microbiële voedselveiligheid en er is zelfs een hoofdstuk gewijd aan toepassingen in de sierteelt.

Het boek is duidelijk geschreven en heeft een heldere opbouw. Er is ruimschoots gebruik gemaakt van zeer duidelijke kleurenillustraties, die bovendien goed aansluiten bij de tekst. Een sterk pluspunt is het beschrijven van niet enkel diagnostiek van infectieziekten, maar ook toepassingen binnen de pathologie, klinische chemie, forensisch onderzoek, voedselveiligheid en de sierteelt.

Het boek is vooral geschikt voor studenten en startende analisten en wetenschappers die zich (gaan) bezighouden met moleculaire technieken. Zeker gezien het feit dat het een van de weinige (zo niet het enige) Nederlandstalige boeken is waarin moleculaire diagnostiek zo helder uiteen wordt gezet.

R. te Witt



ISBN: 978-90-77423-95-0

Pagina's: 694

Tweede druk

Uitgever: Syntax Media

Prijs: € 69,00

Taal: Nederlands

Atlas of Human Infectious Diseases

Onder redactie van H. Wertheim, P. Horby en J. Woodall

Het boek kwam vorig jaar al uit maar is zeker de moeite waard om nu nog te bespreken. Het is een atlas zoals iedere andere: per onderwerp wordt aan de hand van een wereldkaart of een deelkaart een specifieke infectieziekte of andere parameter (economie, sanitair, voeding, vectoren, etc.) beschreven die bijdraagt aan bepaalde infecties. Op de linkerpagina staat steeds de wereldkaart ingekleurd met de betreffende epidemiologische gegevens en op de rechterpagina wordt in het kort een toelichting gegeven (micro-organisme, diagnose, klinisch beeld, behandeling, referentie en hoe de kaart is verkregen of samengesteld). Het boek is door meer dan 100 auteurs geschreven en bestaat uit vijf secties.

In de eerste sectie ('Infectious disease drivers') worden onderliggende factoren van infectieziektenuitbraken in kaart gebracht: onder andere wereldpopulatie, urbanisatie, vliegtuigbewegingen, oorlog en vrede, sanitair, voeding, klimaat en antibioticagebruik. De kaarten geven soms een verrassend pijnlijke weergave van de werkelijkheid. Bijvoorbeeld de kaart over ondervoeding van kinderen jonger dan vijf jaar: in rode inkt wordt in één oogopslag duidelijk waar het probleem het grootst is (Midden-/Zuid-Afrika, Jemen, Oman, Pakistan, India). Grote gelijkenissen zijn er met de kaarten over kindersterfte en levensverwachting. De kaart over antibioticagebruik laat voor meer dan 50% van het wereldoppervlak een grijs gebied zien omdat data uit deze landen niet beschikbaar is; dit is tevens een minpunt bij sommige andere kaarten.

De tweede sectie beschrijft bacteriële infecties wereldwijd. Kaarten over onder andere antrax, *Bartonella bacilliformis*, *Bartonella quintana*, botulisme, brucellose, cholera, endemische treponematose, lepra, Q-koorts, rat-bite fever, rickettsiose en tbc. Een opvallende kaart is de kaart van *Neisseria meningitidis*; de verschillende serosubtypen zijn mooi in kaart gebracht waarbij zeer opvallend een 'meningitis belt' wordt gevisualiseerd. Van West- naar Oost-Afrika ten hoogte van de subsahara wordt een zeer groot risico voor meningokokken meningitis beschreven. De kaarten van bekende verwekkers beschrijven vaak het aantal uitbraken met deze verwekkers.

Sectie 3 beschrijft schimmelinfecties: *Blastomycosis coccidioidomycose*, histoplasmose, madura foot, paracoccidioidomycose en *Penicillium marneffei*.

Sectie 4 beschrijft de parasitaire infectieziekten waaronder *E. histolytica*, anisakidose, babesiose, clonorchiasis, echino-

cocose, filariasis, leishmaniasis, loiasis en malaria. Een mooi voorbeeld uit deze sectie is de kaart over trypanosomiasis: in groot detail wordt aangegeven waar geografisch in Afrika trypanosomeninfecties voorkomen. Deze kaart is ook voor klinici van groot belang bij het beoordelen van het risico op deze ziekte bij een reiziger die zich meldt met koorts.

Sectie 5 bestaat uit de kaarten over virale infectieziekten: onder andere vogelgriep, Ross River-virus, bunyavirus, chikungunyakoorts, denguevirus, ebolavirus, marburgvirus, westnijlvirus, zika fever, hepatitisvirussen, hiv en poliovirus. Iedere kaart over virusinfecties geeft in detail mooi weer hoe de geografische verspreiding is met daarbij goede bronvermeldingen om zelf nog meer informatie op internet te kunnen zoeken. Ook deze sectie kan zeer nuttig zijn bij het beoordelen van reizigers of immigranten met koortsende ziekte.

De atlas heeft een paar minpunten zoals het wisselende niveau van details en het feit dat niet altijd alle informatie per land beschikbaar is waardoor een kaart soms minder informatie geeft dan verwacht. De atlas als geheel is zeer de moeite waard en niet alleen voor de 'geïnteresseerde lezer' maar ook voor de arts-microbioloog of infectioloog die te maken krijgt met een reiziger of immigrant die uit een specifiek land komt. Deze atlas helpt dan enorm om een differentiaaldiagnose op te stellen die wel hout snijdt en geen overbodige diagnostiek tot gevolg heeft. De atlas heeft wel een houdbaarheidsprobleem omdat de meeste epidemiologie aan verandering onderhevig is. De vraag is dus of de redacteurs op tijd een nieuwe versie zullen maken.

G. Andriess



ISBN: 978-1-4051-8440-3

Pagina's: 280

Eerste druk

Uitgever: Wiley-Blackwell

Prijs: € 105,00

Taal: Engels

PROMOTIES

10 oktober 2013 **I.L. Bergval**

Evolution of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*
Promotores: prof. dr. P.R. Klatser en prof. dr. M.W. Borgdorff
AMC Amsterdam, afd. Klinische Epidemiologie en
Biostatistiek
GGD Amsterdam. KIT Biomedical Research

16 oktober 2013 **G.J.A. Driessen**

Immunobiology of primary antibody deficiencies. Towards
a new classification
Promotores: prof. dr. J.J.M. van Dongen en prof. dr. P.M.
van Hagen
Copromotores: dr. M. van der Burg en dr. N.G. Hartwig
Erasmus MC Rotterdam, afd. Klinische Immunologie

18 oktober 2013 **K. Stol**

Otitis Media. Interplay between host and pathogen
Promotores: prof. dr. P.W.M. Hermans en
prof. dr. em. R. de Groot
Copromotor: dr. A. Warris
UMC St Radboud Nijmegen, afd. Kindergeneeskunde

28 oktober 2013 **C.K. Nganou Makamdop**

Immune responses and protection induced by whole
attenuated *Plasmodium berghei* sporozoites
Promotor: prof.dr. R.W. Sauerwein
UMC St Radboud Nijmegen, afd. Medische Microbiologie

5 november 2013 **R.S. Groen**

Surgical need & capacity in low and middle income
countries
Promotor: prof. dr. M.W. Borgdorff
Copromotor: prof. M.A. Hardy
AMC Amsterdam, afd. Klinische Epidemiologie en
Biostatistiek. GGD Amsterdam

6 november 2013 **M.M. Claassens**

Tuberculosis case finding in South Africa
Promotor: prof. dr. M.W. Borgdorff
Copromotor: prof. dr. N. Beyers
AMC Amsterdam, afd. Klinische Epidemiologie en
Biostatistiek
GGD Amsterdam.

11 november 2013 **F. Iovino**

Streptococcus pneumoniae interactions with endothelial
cells leading to invasive pneumococcal disease
Promotores: prof. dr. J.M. van Dijk en prof. dr. G. Molema
Copromotor: dr. J.J.E. Bijlsma
UMC Groningen, afd. Medische Microbiologie en afd.
Pathologie & Medische Biologie

25 november 2013 **Sjouke Piersma**

Applications of quantitative fluorescence microscopy for
systems level gene expression analyses in *Bacillus subtilis*
Promotor: prof. dr. J.M. van Dijk
Copromotor: dr. E.L. Denham
UMC Groningen, afd. Medische Microbiologie

17 december 2013 **J. Whelan**

Breaking the chain of transmission: immunization and
outbreak investigation
Promotor: prof. dr. M.W. Borgdorff
Copromotores: dr. J.A.R. van den Hoek en dr. G.J.B. Sonder
AMC Amsterdam, afd. Klinische Epidemiologie en
Biostatistiek. GGD Amsterdam.

7 januari 2014 **S. de Kleijn**

About waves and poison. Immune-modulatory effects
of electromagnetic fields and lipopolysaccharide in
experimental models
Promotores: prof. dr. P.W.M. Hermans en prof. dr. R.P.
Pickkers
Copromotores: dr. J.G. Ferwerda en dr. J.D. Langereis
UMC St. Radboud Universiteit Nijmegen, afd.
Kindergeneeskunde en afd. Intensive Care

14 januari 2014 **R. Bom**

Molecular epidemiology of *Chlamydia trachomatis*
Promotor: prof. dr. H.J.C. de Vries
Copromotores: dr. S.M. Bruisten en dr. M.F. Schim van der
Loeff
AMC Amsterdam, afd. Dermatologie. GGD Amsterdam

24 januari 2014 **W.E. Kaman**

Chirality: the key to specific bacterial protease-based
diagnosis?
Promotor: prof. dr. H.P. Endtz
Copromotores: dr. J.P. Hays en dr. F.J. Bikker
Erasmus MC Rotterdam, afd. Medische Microbiologie &
Infectieziekten

ORATIE

15 november 2013 **Prof. dr. E.C.M. van Gorp**

Hoogleraar Klinische Virologie, in het bijzonder de
exotische virusinfecties
Titel oratie en symposium: "Exotic infections in the global
perspective".
Erasmus MC Rotterdam, afd. Viroscience. Rotterdam
Global Health Initiative

AGENDA

21 januari 2014

Nederlandse Werkgroep Klinische Virologie (NWKV)

Reinier de Graaf Groep, Delft

Informatie: Annelies Riezebos-Brilman (secretaris)

050-3616161, <http://www.nvmm.nl/nwkv>

11 februari 2014

WMDI-bijeenkomst (tevens ALV)

11 februari 2014

Innovation for health

Amsterdam

www.innovationforhealth.eu

7 maart 2014

Dutch Annual Virology Symposium (DAVS)

www.uu.nl/vet/davs

2-5 april 2014

16th ICID

Kaapstad, Zuid-Afrika

<http://www.isid.org/icid/>

15-16 april 2014

Voorjaarsvergadering NVMM

Papendal, Arnhem

10-13 Mei 2014

24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID)

Barcelona

<http://www.congrex.ch/eccmid2014/>

17-20 Mei 2014

ASM 2014, 114th General Meeting,

Boston Massachusetts

<http://gm.asm.org/>

10 juni 2014

WMDI-bijeenkomst (samen met NWKV)

19-20 juni 2014

6^e Nederlandstalige Tuberculose Diagnostiek Dagen

Rotterdam

22-26 juni 2014

15th Biennial INTERNATIONAL PARVOVIRUS Workshop

Bordeaux

<http://parvovirus.org/2014/home/>

6-9 september 2014

54th ICAAC 2014

Washington, DC, USA

[www.http://www.asm.org/index.php/asm-events/icaac2013](http://www.asm.org/index.php/asm-events/icaac2013)

11-13 september 2014

European Bone and Joint Infection Society-congres

Utrecht

www.ebjis2014.org; email: ebjis2014@congressbydesign.com

16 september 2014

WMDI-bijeenkomst

29 oktober - 1 november 2014

16th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies

Praag

<http://w3.kenes-group.com/mailshot/congress/esid2014/ms2.html?ref2=db1>

4 november 2014

WMDI-bijeenkomst

CURSUSAANKONDIGING NSPOH

Outbreakonderzoek

Outbreaks komen altijd onverwacht. In deze module doorloopt u aan de hand van casestudies, afgewisseld met theorie, het onderzoekstraject van enkele outbreaks (klein en groot).

Doelgroep: artsen werkzaam in de infectieziektebestrijding, bedrijfsartsen, huisartsen, dierenartsen en medisch microbiologen.

Data: dinsdag 18 en 25 maart, 8 april en 15 april 2014

Kosten: € 1.540

Locatie: Utrecht

Link: <http://www.nspoh.nl/page.ocl?pageid=32&id=91>

Inlichtingen: telefoon 020-4097000, e-mail info@nspoh.nl.

RICHTLIJNEN VOOR AUTEURS

Het *Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie* is het officiële orgaan van de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie. Het doel van het tijdschrift is de lezers te informeren over ontwikkelingen betreffende het vakgebied.

In het tijdschrift worden zowel fundamentele als klinische aspecten van de medische microbiologie belicht. Daarnaast biedt het plaats aan aankondigingen van promoties e.d., evenementen en aan mededelingen uit de vereniging.

Het tijdschrift volgt de meest recente editie van 'Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals' (zie Br Med J 1988;296:401-5 of Ann Intern Med 1988;108:258-65).

Door het inzenden van kopij verklaart de auteur:

- dat hij/zij het recht van eenmalige publicatie overdraagt aan het Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie;
- dat het manuscript niet eerder of tezelfdertijd aan een ander Nederlandstalig tijdschrift is aangeboden;
- dat hij/zij ermee akkoord gaat dat de redactie het manuscript ter beoordeling aan referenten voorlegt, en aanpassingen toestaat daar waar nodig om de stijl van het manuscript bij te stellen vanwege de uniformering in het Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie;
- dat met name genoemde personen die aan het totstandkomen van het manuscript hebben bijgedragen, akkoord gaan met de vermelding van hun naam, en toestemming hebben gegeven voor publicatie;
- dat hij/zij toestemming heeft verkregen voor het publiceren indien het reeds eerder gepubliceerd materiaal betreft, of indien het overname van een illustratie betreft.

Het manuscript is als volgt ingedeeld:

- titelpagina: titel manuscript, titels, namen en werkplaats en adressen van alle auteurs, eventuele dankbetuiging, correspondentieadres van een auteur met telefoonnummer (eventuele telefaxnummers), e-mailadressen, financiers;
- samenvatting in het Nederlands;
- drie tot maximaal vijf Nederlandse trefwoorden (bv. *Index Medicus*);
- samenvatting in het Engels.

Geef duidelijk aan welke delen van de tekst cursief dienen te worden afgedrukt (bv. namen van micro-organismen).

Oorspronkelijk onderzoeks- en overzichtsartikel

Hierbij wordt uitgegaan van maximaal vijf gedrukte tijdschriftpagina's inclusief samenvatting en literatuurgegevens (maximaal 3.000 woorden). Het manuscript moet een Nederlandse en Engelse samenvatting bevatten van elk maximaal 200 woorden. Maximaal vijf tabellen en/of figuren. Maximaal 30 literatuurverwijzingen. In de tekst worden referenties met nummer (in superscript) en niet met naam vermeld.

Casuïstiek

Hierbij wordt uitgegaan van drie gedrukte tijdschriftpagina's, inclusief samenvatting en literatuurgegevens (maximaal 1.800 woorden). Het manuscript moet een samenvatting bevatten van maximaal 150 woorden, gevolgd door een beschouwing en een conclusie. Maximaal vijf auteurs noemen. Maximaal drie tabellen en/of figuren. Maximaal 15 literatuurverwijzingen. In de tekst worden referenties met nummer (in superscript) en niet met naam vermeld.

Van de voorzitter

Hierbij wordt uitgegaan van maximaal twee gedrukte tijdschriftpagina's (1.200 woorden). Geen tabellen en/of figuren. Maximaal vijf literatuurverwijzingen. In de tekst worden referenties met nummer (in superscript) en niet met naam vermeld.

Ingezonden

In deze rubriek worden commentaren, brieven en reacties op artikelen of brieven opgenomen. Er wordt gelegenheid gegeven tot maximaal twee gedrukte tijdschriftpagina's (1.200 woorden) en maximaal vijf literatuurverwijzingen.

Samenvatting proefschrift

In deze rubriek worden de samenvattingen van recente promoties op het gebied van infectieziekten opgenomen. Hierbij wordt uitgegaan van maximaal één gedrukte tijdschriftpagina (500-600 woorden). Geen tabellen, figuren of literatuurverwijzingen. Verwijzingen naar hoofdstukken in het proefschrift dienen te worden vermeden. Verder dient het taalgebruik gericht te zijn op de doelgroep, vermijd leektaal.

Literatuur

De lijst met gerefereerde literatuur aan het eind van het manuscript wordt opgesteld aan de hand van de nummering in de tekst. Elke verwijzing staat op een nieuwe regel: nummer, namen en voorletters (bij meer dan zes auteurs, na de zesde auteur: ", et al."); de volledige titel van de publicatie, naam van het tijdschrift volgens de *Index Medicus*; jaartal; deelnummer; nummer van eerste pagina (voluit) en die cijfers van het laatste paginanummer die verschillen van het eerste paginanummer, zonder spaties tussen de dubbele punten en de cijfers, zoals hieronder is aangegeven.

Voorbeeld:

1. Huysmans FThM, Wetzels JFM. Strikte behandeling van de bloeddruk bij patiënten met een nierziekte en proteïnurie. Ned Tijdschr Geneeskd 2000;144:2085-7.

Voor de overige referentievormen wordt verwezen naar de 'Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals'.

Medicamenten of farma

Medicamenten of farma worden alleen met generische naam vermeld.

Nomenclatuur

Cursief gedrukte tekst dient in het manuscript als cursief dan wel onderstreept te worden aangegeven. Bij het voor de eerste keer noemen van de bacterienaam of parasieten-naam dient deze voluit te worden geschreven in cursief (zie de semantische standaard op www.nvmm.nl). Daarna dient de genus-naam te worden afgekort tot de eerste letter ('*S. aureus*', '*T. gondii*'). Wanneer de naam van het genus op zichzelf wordt gebruikt zoals in 'er werden stafylokokken gevonden', of 'streptokokkeninfectie' wordt niet gecursiveerd. Bij specifiek gebruik van de genus-naam, bijvoorbeeld 'micro-organismen van het genus *Staphylococcus*' wordt wel gecursiveerd. Indien dit meervoud wordt gebruikt zoals bij 'Salmonellae' wordt niet gecursiveerd, maar kan ook worden gekozen voor 'salmonella's'. In samenstellingen wordt aaneengeschreven met een verbindingsstreepje: '*Salmonella*-infecties', '*Salmonella*-species', maar zonder streepje in '*Salmonella* spp.'. Voor virussen geldt dat zij niet cursief worden geschreven. Voor het gebruik van de naam van de aandoening of ziekte wordt de spelling van Pinkhof, *Geneeskundig woordenboek*, aangehouden.

Illustraties

Geïllustreerde manuscripten vergroten de leesbaarheid. Foto's, tabellen en/of figuren dienen digitaal in de vorm van een .jpg-, .jpeg-, .tif- of .bmp-bestand van een hoge resolutie te worden aangeleverd. Figuren dienen vakkundig te zijn vervaardigd. De afbeeldingen moeten zo veel mogelijk contrasterend zijn. Lever bij de figuren en foto's gaarne de onderschriften aan het eind van het document. Op foto's van microscopische preparaten moet een lijnstuk met schaalverdeling zijn aangebracht waaruit de vergrotingsfactor kan worden afgelezen. Pijlen, letters en dergelijke moeten helder (in zwart of wit) tegen de achtergrond afsteken.

Inzenden manuscript

Stuur het manuscript inclusief de aanbiedingsbrief en de tabellen, figuren en foto's naar het redactiesecretariaat, het liefst digitaal per e-mail.

Redactiesecretariaat

Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie
Postbus 2122, 2400 CC Alphen aan den Rijn, tel. 0172-476 191,
fax. 0172-471 882, e-mail: kapteyn@vanzuidencommunications.nl

Cancidas®

(caspofungin, MSD)

Breed toepasbaar bij

- Invasieve candidiasis
- Invasieve aspergillose*
- Empirische antifungale therapie


Antifungale therapie zonder compromis

- Voor volwassenen én kinderen
- Voor neutropenen én niet-neutropenen
- Goed verdragen¹
- Eenvoudige dosering
- 11 jaar klinische ervaring

Referenties:

* Invasieve aspergillose bij volwassene patienten en kinderen die niet reageren op amfotericine B, toedieningsvormen van amfotericine B met lipiden en/of itraconazol of deze niet verdragen.
1. D.W. Denning: Echinocandin antifungal drugs. The Lancet 362: 1142-51, 2003.

Raadpleeg de volledige productinformatie alvorens CANCIDAS voor te schrijven

 MSD Merck Sharp & Dohme BV, Postbus 581, 2003 PC Haarlem, Tel. 0800-9999000, email medicalinfo.nl@merck.com, www.msd.nl, www.univadis.nl

**Cancidas®**
(caspofungin, MSD)

Evidence. Experience. Confidence.

DIFICLIR[®]
fidaxomicine

Sustain response. Reduce recurrence.

Bevrijd uw patiënt van
Clostridium difficile...

**NU GVS
VERGOED!**

...minimaliseer recidieven met
doelgerichte therapie!

 **astellas**
Leading Light for Life