

NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR MEDISCHE MICROBIOLOGIE





NOXAFIL® (posaconazol) nu ook als tablet beschikbaar

Eenmaal daags tegen invasieve schimmelinfecties*

Oplaaddosis van 300 mg (drie tabletten van 100 mg) tweemaal daags op de eerste dag en daarna 300 mg (drie tabletten van 100 mg) eenmaal daags.



 **NOXAFIL**®
(posaconazol, MSD)

VERKORTE PRODUCTINFORMATIE NOXAFIL®. Voor de volledige en meest recente productinformatie verwijzen wij naar de goedgekeurde SPC op www.eua.europa.eu **NAAM VAN HET GENEESMIDDEL** Noxafil 40 mg/ml suspensie voor oraal gebruik; Noxafil 100 mg maagsapresistente tabletten **KWALITATIEVE EN KWANTITATIEVE SAMENSTELLING** Per ml suspensie 40 mg posaconazol; per tablet 100 mg posaconazol. **FARMACEUTISCHE VORM** Suspensie voor oraal gebruik; tablet. **FARMACOTHERAPEUTISCHE GROEP EN WERKINGSMECHANISME** Antimycotica voor systemisch gebruik, triazoolderivaten. Posaconazol remt het enzym lanosterol 14 α -demethylase (CYP51), dat een essentiële stap in de biosynthese van ergosterol katalyseert. **THERAPEUTISCHE INDICATIES** **Behandeling van: Invasieve aspergillose** die ongevoelig is voor amfotericine B of itraconazol of als deze geneesmiddelen niet verdragen worden; **Fusariose** die ongevoelig is voor amfotericine B of als amfotericine B niet verdragen wordt; **Chromoblastomycose** en **mycetoorn** die ongevoelig is voor itraconazol of als itraconazol niet verdragen wordt; **Coccidioidomycose** die ongevoelig is voor amfotericine B, itraconazol of fluconazol of als deze geneesmiddelen niet verdragen worden. Noxafil is eveneens geïndiceerd voor **Profylaxe van: invasieve schimmelinfecties** bij: 1. Patiënten die remissie-inductiechemotherapie krijgen voor acute myelogene leukemie (AML) of myelodysplastische syndromen (MDS) waarbij aanhoudende neutropenie verwacht wordt en bij wie een hoog risico bestaat op ontwikkeling van invasieve schimmelinfecties; 2. Ontvangers van hematopoëtische stamceltransplantaten (HSCT) die immunosuppressieve therapie met hoge dosering ondergaan voor graft-versus-hoest ziekte en bij wie hoog risico bestaat op ontwikkeling van invasieve schimmelinfecties. **Alleen voor Noxafil suspensie voor oraal gebruik: Behandeling van Orofaryngeale candidiasis:** eerstelijnsbehandeling bij patiënten die een ernstige ziekte hebben of die immunocompromiteerd zijn, bij wie verwacht wordt dat de respons op lokale therapie zwak is. **CONTRA-INDICATIES** Overgevoeligheid voor de ingrediënten; co-administratie van ergotalkaloiden; co-administratie van CYP3A4-substraten terfenadine, astemizol, cisapride, pimozide, halofantrine of kinidine, omdat verhoogde plasmaconcentraties van deze middelen kunnen leiden tot QTc-verlenging en zelden tot torsades de pointes; co-administratie van de HMG-CoA-reductasremmers simvastatine, lovastatine en atorvastatine. **BELANGRIJKSTE WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGEN BIJ GEBRUIK** Voorzichtigheid is geboden bij overgevoeligheid voor andere azolen. Met voorzichtigheid gebruiken bij leverfunctiestoornis i.v.m. beperkte klinische ervaring en mogelijke verhoogde posaconazolplasmaconcentraties. Leverreacties (verhoging ALAT, ASAT, alkalische fosfatase, totale bilirubine en/of klinische hepatitis) zijn gemeld; leverfunctiestafwijkingen waren meestal reversibel bij staken. Zelden zijn fatale leverreacties gezien. Het therapeutisch beleid moet laboratoriumbeoordeling van de leverfunctie omvatten, m.n. leverfunctietesten en bilirubine, bij starten en tijdens de behandeling. Bij abnormale functietestwaarden regelmatig controleren op ontwikkeling van ernstigere leverbeschadiging. Staken moet overwogen worden bij klinische tekenen van het ontstaan van een leveraandoening. Sommige azolen zijn geassocieerd met QTc-verlenging. Noxafil mag niet worden gegeven met CYP3A4-substraten die QTc-verlenging geven. Met voorzichtigheid toedienen bij pro-arritmische aandoeningen, zoals congenitale of verworven QTc-verlenging, cardiomyopathie m.n. met hartfalen, sinusbradycardie, bestaande symptomatische aritmieën, gelijktijdig gebruik van andere middelen die QTc-interval verlengen. Elektrolytenstoornissen, m.n. kalium, magnesium of calcium, moeten gecontroleerd en gecorrigeerd worden zoveel als nodig vóór en tijdens behandeling. Noxafil remt CYP3A4 en mag alleen gebruikt worden onder specifieke omstandigheden met andere CYP3A4 substraten. Farmacokinetische gegevens bij ernstige gastro-intestinale stoornissen zijn beperkt. Bij ernstige diarree of braken is zorgvuldige controle nodig i.v.m. eventuele doorbraak van schimmelinfecties. Rifamycine antimicrobiële middelen (rifampicine, rifabutine), sommige anticonvulsiva (fenytoïne, carbamazepine, fenobarbital, primidon), efavirenz en cimetidine kunnen posaconazolconcentraties significant verlagen.

Vermijd gelijktijdig gebruik tenzij het voordeel opweegt tegen het risico. Noxafil tabletten zijn het voorkeurspreparaat voor optimalisering van de plasmaconcentraties en bieden over het algemeen een hogere blootstelling aan het geneesmiddel in het plasma dan de Noxafil suspensie voor oraal gebruik. Veiligheidsgegevens over hogere blootstellingspiegels bij tabletten zijn beperkt. Raadpleeg SPC voor alle interacties. Noxafil orale suspensie bevat 1,75g/5 ml glucose, daarom niet gebruiken bij glucose-galactose malabsorptie. **BIJWERKINGEN** **Zeer vaak:** misselijkheid **Vaak:** neutropenie, verstoring van elektrolytenbalans, anorexie, hypokaliëmie, paresthesie, duizeligheid, slaperigheid, hoofdpijn, braken, abdominale pijn, diarree, dyspepsie, droge mond, flatulentie, constipatie, verhoogde leverfunctietestwaarden (ALAT, ASAT, bilirubine, alkalische fosfatase, GGT), rash, pruritus, pyrexie (koorts), asthenie en vermoeidheid. **Soms:** trombocytopenie, leukopenie, anemie, eosinofilie, lymfadenopathie, allergische reactie, hyperglykemie, convulsies, neuropathie, hypo-esthesie, tremor, afasie, slapeloosheid, wazig zien, lange-QT-syndroom, abnormaal ECG, palpities, bradycardie, supraventriculaire extrasystolen, tachycardie, hypertensie, hypotensie, vasculitis, hoesten, bloedneus, de hik, pijnlijke pleuritis, pancreatitis, gastro-oesofageale refluxziekte, mondoedeem, hepatocellulaire schade, hepatitis, geelzucht, hepatomegalie, mondercaratie, alopecia, rugpijn, pijn in extremiteit, (acuut) nierfalen, verhoogd bloedcreatinine, menstruatiestoornis, oedeem, pijn, koude rillingen, malaise, mucosale ontsteking en veranderde geneesmiddelenpiegels. **Zelden:** hemolytisch-uremisch syndroom, trombotische trombocytopenische purpura, pancytopenie, coagulopathie, hemorrhagie, overgevoeligheidsreactie, bijnierinsufficiëntie, verlaagde gonadotropineconcentratie in bloed, psychotische stoornis, depressie, cerebrovasculair accident, encefalopathie, perifere neuropathie, syncope, diplopie, scotom, gehoortoornis, torsades de pointes, plotselinge dood, ventriculaire tachycardie, hart- en ademhalingsstilstand, hartfalen, myocardinfarct, longembolie, diepveneuze trombose, pulmonale hypertensie, interstitiële pneumonie, pneumonitis, gastro-intestinale bloeding, ileus, leverfalen, cholestatische hepatitis, cholestase, hepatosplenomegalie, levergevoeligheid, asterix, SJS, vesiculaire rash, renale tubulaire acidose, interstitiële nefritis, borstpijn, tongoedeem en gezichtsedeem. **Frequentie niet bekend:** verwarde toestand. Post-marketing is ernstige leverbeschadiging met fatale afloop gemeld bij Noxafil orale suspensie. **REGISTRATIEHOUDER** MSD Ltd, Hertford Road, Hoddesdon, Hertfordshire EN11 9BU, VK **LOKALE VERTEGENWOORDIGER** MSD BV, Postbus 581, 2003 PC Haarlem, tel. 0800 9999 000, www.msd.nl, www.univadis.nl, medicalinfo.nl@merck.com. **REGISTRATIENUMMERS** EU/1/05/20/001, 002 **VERGOEDING** Volledig vergoed. **AFLEVERSTATUS UR DATUM SPC** April/Mei 2014

Raadpleeg de volledige productinformatie (SPC) alvorens NOXAFIL voor te schrijven.

* Behandeling van invasieve Aspergillose, Fusariose, Chromoblastomycose en Mycetoorn, Coccidioidomycose, die ongevoelig is voor eerstelijns therapie of als deze geneesmiddelen niet verdragen worden.

Profylaxe van invasieve schimmelinfecties bij risicopatiënten die remissie-inductiechemotherapie krijgen voor acute myelogene leukemie (AML) of myelodysplastische syndromen (MDS) waarbij aanhoudende neutropenie verwacht wordt of bij risicopatiënten die hematopoëtische stamceltransplantaten (HSCT) ontvangen en die immunosuppressieve therapie met hoge dosering ondergaan voor graft-versus-hoest ziekte.

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

Mw. dr. E. Heikens, J.A. Kaan

Redactie

Mw. dr. I.A.J.M. Bakker-Woudenberg, J.M. van Hattem, dr. J.J. van Hellemond, mw. M. Jager, dr. J.S. Kalpoe, dr. B. Meek, dr. M. Van Rijn, mw. A.T.R. Tholen, dr. H.F.L. Wertheim, dr. R. te Witt

Redactiesecretariaat

Van Zuiden Communications B.V.
Mw. S.L. van der Meer
Tel. (0172) 476191, e-mail: projectmanager@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



© 2014, 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 gedeponneerd bij de Kamer van Koophandel te Leiden.

ISSN 0929-0176



Inhoud

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Van de redactie | 130 |
| Transmissieroute | |
| (A)parate kennis | 131 |
| <i>N. Arents</i> | |
| Column | |
| Staphefekt | 132 |
| <i>B. Herpers</i> | |
| Artikelen | |
| Ebola viral disease | 133 |
| <i>M. Goeijenbier, C.B.E.M Reusken, B.E.E. Martina, M.P.G. Koopmans, J. van Kampen, E.C.M van Gorp</i> | |
| De waarde van moleculaire Mycobacterium tuberculosis-diagnostiek: side-kick of first choice? | 139 |
| <i>P.F.G. Wolffs, P.H.M. Savelkoul</i> | |
| Artesunaat; eerste keus voor parenterale behandeling van malaria | 144 |
| <i>P.A. Kager, P.J. de Vries</i> | |
| Op het verkeerde been door een tuberculoseweek: een leerzame casus uit de praktijk | 147 |
| <i>L.E.M. Haas, A.J. Stam, M. Taris, A.W.J. Bossink, J.W. Fijen, W.C.M. de Lange</i> | |
| Ingezonden | |
| Het influenzaseizoen 2013/2014 in Nederland: lage influenza-activiteit | 153 |
| <i>J.C. de Jong, A. Meijer, G.A. Donker, W. van der Hoek, M.M.A. de Lange, G.F. Rimmelzwaan, A.D.M.E. Osterhaus</i> | |
| Groeten uit het buitenland | |
| Acht maanden Medische Microbiologie in The Rainbow Nation | 162 |
| <i>S. van Mens</i> | |
| Column | |
| Influenzavaccins: naar een nieuwe beoordeling van klinische bescherming en bijwerkingen | 164 |
| <i>B. Voordouw, L. Wijnans</i> | |
| Samenvattingen proefschriften | |
| Automating the Surveillance of Healthcare-Associated Infections | 166 |
| <i>M.S.M. van Mourik</i> | |
| Long-term follow-up of acute Q fever patients after a large epidemic | 168 |
| <i>C.C.H. Wielders</i> | |
| Museumverslag | |
| Micropia, het Utopia voor medisch (én moleculair) microbiologen | 170 |
| <i>M.L.M. van Doorn-Schepens, A.T.R. Tholen, C.M.J.E. Vandenbroucke-Grauls</i> | |
| Boekbespreking | |
| Primer to The Immune Response, red. T.W. Mak, M.E. Saunders, B.D. Jett | 172 |
| <i>B. Meek</i> | |

Toelichting bij coverbeeld: Alleen de Afrikaanse landen waar Ebola heerst zijn roodgekleurd, om te benadrukken dat, anders dan de krantenkoppen lijken te beweren, niet heel Afrika gevaarlijk is.

Cover: Willemien Zandijk en Loes van Damme, Erasmus MC, afdeling Medische Microbiologie & Infectieziekten, Postbus 2040, 3000 CA Rotterdam.

Een mooie toekomst

Beste lezer,

Dit is het laatste voorwoord dat ik voor het NTMM schrijf. De reden is dat ik het stokje van de hoofdredactie overdraag aan Jan Kaan en zelf stop met activiteiten voor het NTMM. Ik zat in de hoofdredactie aanvankelijk samen met Wim Ang en daarna met Esther Heikens. Drie jaar zijn voorbij gevlogen. Momenteel werk ik aan nieuwe uitdagingen waardoor de tijd voor het NTMM regelmatig moeilijk is te vinden. We hebben de afgelopen jaren veel tijd en energie gestoken in het opzetten van themanummers. Het doel van de themanummers is om laagdrempelig over één bepaald onderwerp informatie met elkaar te delen binnen de Nederlandse beroepsgroep. Het idee kwam onder meer voort uit de langlopende discussie binnen de redactie over de positie van het NTMM binnen de NVMM: wat verwacht men van het NTMM? De NVMM heeft de website, losse e-mails en het NTMM als bruikbare informatiekanaalen, maar een duidelijk plan voor de toekomst van deze onderdelen ontbreekt. De hoofdredactie heeft twee jaar geleden gepoogd een brede discussie op te zetten door de websitecommissie, kennisdelingscommissie, NTMM-redactie en bestuur met elkaar in

contact te brengen. Een idee was om één informatiekanaal op te zetten: bijvoorbeeld een website analoog aan die van Artsennet (Medisch Contact, etc) waarbij een e-mail zou kunnen worden verstuurd waarin hyperlinks doorlinken naar een wetenschappelijk artikel uit het NTMM of naar een nieuwsbrief van het bestuur of een agenda van een werkgroep. Welke vorm er ook wordt gekozen, de conclusie was dat een redactie onontbeerlijk blijft. Ik hoop dat de komende jaren een toekomstbestendige vorm wordt gevonden die zowel het NTMM, de website en vereniging met elkaar verbindt.

Eén van de leukste activiteiten in de afgelopen jaren vond ik het interview met de Inspectie voor de Gezondheidszorg (IGZ). Het interview kwam tot stand door intensieve samenwerking met de IGZ, redactie, VanZuiden Communications en collega's uit de NVMM. Ik zou graag zien dat het NTMM meer opiniërende stukken gaat produceren en dat het een platform biedt voor brede discussies binnen de NVMM.

Ik dank mijn collega's uit de redactie voor de prettige samenwerking en wens het NTMM een mooie toekomst.

Gunnar Andriess

(A)parate kennis

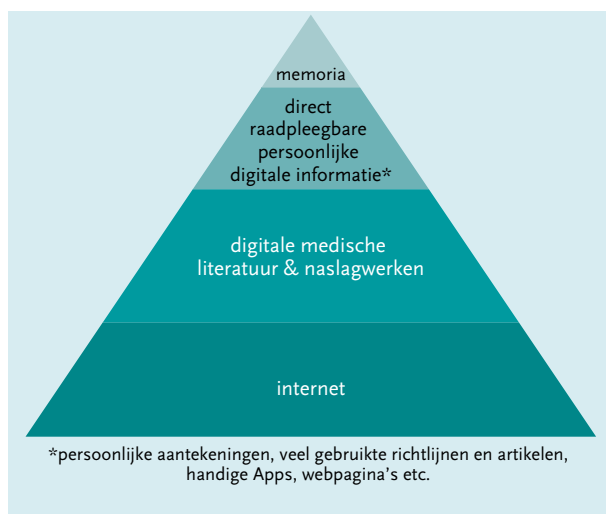
N. Arents

Vraag: “Kun je het herpes-simplexvirus isoleren door vermeerdering op een LLC-MK₂-cellijn?” Antwoord: “uhh”. De eerste AIOS, de eerste vraag en direct zakt ondergetekende kersverse B-opleider door het ijs. Ondanks vijf jaar opleiding, vier jaar promotieonderzoek, zeven jaar praktijkervaring en een basic clinical teaching cursus is dit de feedback die ik de AIOS kan geven. Hoe is het mogelijk? Waarom weet ik het antwoord niet? Dat had ik toch gewoon moeten weten?

Iedereen weet dat geneeskunde een vak is dat met name is weggelegd voor mensen met een grote geheugencapaciteit. Tijdens de eerste jaren van de studie staat het stampen van feitjes centraal omdat een bepaalde hoeveelheid basiskennis nu eenmaal onontbeerlijk is om uiteindelijk verbanden te kunnen leggen. Praktisch kan dit proces worden vertaald als het combineren van informatie uit anamnese en diagnostisch onderzoek waarna de ontstane differentiaaldiagnose met rationeel vervolgonderzoek kan worden versmald tot een definitieve diagnose. Deze klassieke ‘humane’ benadering was mijn opleidingsachtergrond en ik neem aan ook de achtergrond van de meeste lezers. Humaan omdat het hele proces feitelijk werd uitgevoerd door de dokter zelf, waarbij hulpmiddelen slechts een bijrol speelden. Natuurlijk werd gebruikgemaakt van diagnostiek, maar alleen nadat de grijze massa besloten had welke diagnostiek moest worden ingezet en wat de consequenties daarvan zouden zijn. Feitelijk

vormde de uitkomst daarvan dus slechts de afronding van het proces. Het uiteindelijke succes van dit proces werd bepaald door de hoeveelheid parate kennis van de dokter: welke ziektebeelden horen bij deze symptomen, welk lichamelijk onderzoek dient te worden uitgevoerd om de vermoedens te versterken en welk diagnostisch onderzoek moet worden ingezet om uiteindelijk tot de diagnose te komen. Al deze verschillende facetten beslaan een enorme hoeveelheid kennis die bij met name ziekenhuispatiënten tegenwoordig nauwelijks nog door één persoon zijn te bevatten. De dagelijkse gezondheidszorg onderstreept dit doordat het zoeken naar de diagnose vrijwel altijd is gebaseerd op een samenspel tussen huisarts, specialist-behandelaar en specialist-ondersteuner. Zelfs binnen de verschillende specialismen is de kennis inmiddels te groot om alle aspecten volledig te kunnen overzien. Voorheen was het lezen van enkele vooraanstaande vakbladen voldoende om redelijk geïnformeerd te blijven. Tegenwoordig bieden tientallen online tijdschriften gratis hun informatie aan, waarbij je met handige programma’s ook nog eens alles naar je toe kunt laten komen. Daar bovenop komt nog de enorme hoeveelheid informatie die beschikbaar is via internet. Met andere woorden: de hoeveelheid informatie (waaronder kennis) neemt exponentieel toe. Deze digitale informatie-explosie heeft een paradoxaal effect op de medische wereld: waar vroeger het stampen van informatie het belangrijkste leerdoel was, is nu het vergeten van informatie het belangrijkste leerdoel. Als je in het huidige tijdperk geen informatie kunt filteren, niet kunt bepalen wat belangrijk is en wat overbodig is, kun je vrijwel niet meer functioneren. De aankomende generatie zou baat hebben bij een meer ‘bionische’ benadering: een beperkte hoeveelheid parate kennis ondersteund door een grote hoeveelheid a-parate kennis (maar wel direct raadpleegbaar). Tijdens de opleiding zou de nadruk dan ook niet moeten liggen op het leren van het stukje parate kennis, maar veel meer op het leren aanleggen, onderhouden en gebruiken van een direct raadpleegbaar persoonlijk digitaal informatie-systeem gebaseerd op gefilterde informatie uit de medische

Figuur 1. Informatieniveaus.



Correspondentieadres: N.L.A. Arents, arts-microbioloog, Stichting PAMM, Laboratoria voor Pathologie en Medische Microbiologie, Veldhoven, e-mail: n.arents@pamm.nl.

literatuur, internet en andere bronnen. De bekende behoeftepiramide van Maslow kan misschien wel het beste worden gebruikt om de verschillende informatieniveaus en hun aandeel in het geheel te beschrijven (figuur 1). Deze overwegingen nodigen uit om eens opnieuw te kijken

naar de manier waarop wij de huidige AIOS opleiden en toetsen, aangezien de informatie in het hoofd een relatief steeds kleiner deel van de benodigde informatie gaat vormen. Herpes-simplesisolatie door middel van LLC-MK2-cellijnen lijkt mij een typische opzoekvraag!

COLUMN

Staphefekt

B. Herpers

In 2006 hoorde ik op de ECCMID voor het eerst over endolysines, enzymen waarmee fagen de bacteriële gastheer openbreken. De theoretische voordelen om endolysines te gebruiken als alternatief tegen bacteriën spraken meteen tot de verbeelding. Door 3,5 miljard jaar co-evolutie van faag en bacterie, bestaan endolysines die zeer gericht slechts één bacteriesoort doden, terwijl de rest van de bacteriële gemeenschap ongedeerd blijft. Natuurlijke selectie heeft er daarnaast voor gezorgd dat endolysines aangrijpen op sterk geconserveerde, essentiële structuren in de celwand, waardoor de kans op ontwikkeling van resistentie minimaal lijkt. Ziedaar de theoretische voordelen ten opzichte van onze antibiotica.

Twee jaar geleden las ik in een krantje in de trein over Microeos, een Nederlands biotech-bedrijf gespecialiseerd in faag-technologie, dat werkte aan endolysines. Met de ECCMID in gedachten en een vriezer vol klinische isolaten zocht ik contact. In het eerste gesprek bleek dat Microeos Staphefekt had ontwikkeld, een endolysine tegen *S. aureus*, geregistreerd als medisch hulpmiddel voor humaan gebruik op de intacte huid. Het UMC Utrecht had al aangetoond dat Staphefekt selectief *S. aureus* doodde, inclusief MRSA (Fluit, 2012). In Haarlem zagen wij vervolgens dat de MIC-verdeling gelijk was voor MSSA en MRSA en dat bij continue blootstelling er wel resistentie-inductie optrad bij lysostaphine en mupirocine, maar niet bij Staphefekt. Twee kleine observationele studies bij mensen volgden. Bij drie van de drie mensen met rosacea met *S. aureus*-huidragerschap, verdween de bacterie bij gebruik van een crème met Staphefekt, terwijl andere huidbacteriën aanwezig bleven. In een groep van zes patiënten met *S. aureus*-gerelateerde dermatitis (eczeem, allergische dermatitis en peri-orale dermatitis) bleken bij vijf de kolonisatiegraad en symptomen af te nemen. Ook gaven enkelen zelf aan dat ze minder corticosteroiden nodig hadden gehad.

Op 5 november zijn deze eerste resultaten in Londen gepresenteerd op het congres Antibiotic Alternatives for the new Millennium. Dit is door media wereldwijd opgepakt als belangrijke doorbraak in de strijd tegen resistente bacteriën, van de voorpagina van The Times tot Radio 1.

Een niet-antibiotisch alternatief bleek te zijn gerealiseerd, en al beschikbaar voor gebruik in de strijd tegen MRSA.

Hierbij zijn natuurlijk enkele kanttekeningen te plaatsen. Hoewel Staphefekt inmiddels door meer dan 10.000 mensen bij huidaandoeningen is gebruikt, is het helaas niet beschikbaar voor systemische behandeling van invasieve MRSA-infecties. Staphefekt is een zeer groot molecuul dat niet de cel binnendringt, en gezien het natuurlijk voorkomen van de epitopen kunnen problemen ontstaan met immunogeniciteit bij systemisch gebruik. Maar zelfs als in de toekomst intraveneuze therapie een brug te ver blijkt, zijn er nog altijd miljoenen mensen met huidaandoeningen die mogelijk geholpen kunnen worden zonder gebruik van antibiotica. Daarom voert het Erasmus MC onder leiding van Suzanne Pasmans inmiddels gecontroleerd onderzoek uit bij patiënten met eczeem. De Vereniging Samenwerkende Brandwondencentra Nederland onderzoekt de lokale toepasbaarheid bij geïnfecteerde brandwonden.

De observatie dat er in het laboratorium geen resistentie tegen Staphefekt kon worden opgewekt past in de theorie, maar bewijst niet dat resistentie nooit zal optreden als het middel breed wordt ingezet. Tot nu toe is gebleken dat tegen elk antibioticum bij grootschalig gebruik uiteindelijk resistentie ontstaat. Maar als je bedenkt dat endolysines dag in dag uit de helft van alle bacteriën op aarde doden, vraag je je af of grootschaliger blootstelling eigenlijk wel mogelijk is. Zelf denk ik dat met Staphefekt het elegante principe van endolysine-technologie daadwerkelijk is gerealiseerd. Naast de klinische studies met Staphefekt verwacht ik de ontwikkeling van nieuwe endolysines, bijvoorbeeld tegen *Clostridium difficile*. En onze positie als schakel tussen lab en kliniek maakt microbiologische laboratoria bij uitstek geschikt om deze innovatie te onderzoeken, te beoordelen en indien geschikt te implementeren.

Correspondentieadres: B. Herpers, arts-microbioloog,
Streeklaboratorium voor de Volksgezondheid Kennemerland,
Haarlem, e-mail: b.herpers@streeklabhaarlem.nl.

Ebola viral disease

M. Goeijenbier, C.B.E.M Reusken, B.E.E. Martina, M.P.G. Koopmans, J. van Kampen, E.C.M van Gorp

Samenvatting

Op dit moment is in West-Afrika de grootste uitbraak van Ebola viral disease (EVD) ooit gerapporteerd gaande. De verwekker van de huidige uitbraak, het Zaïre Ebolavirus (EBOV) behoort tot het genus *Ebolavirus*, dat samen met het genus *Marburgvirus* de familie van de *Filoviridae* vormt. EBOV is een van de meest fatale verwekkers van virale hemorrhagische koorts waarbij bij EVD-patiënten een mortaliteit oplopend tot wel 90 procent, als gevolg van hevige bloedingen en multiorgaanfalen, is gerapporteerd. Voor landen buiten de getroffen gebieden, zoals Nederland, is voorbereiding op een mogelijk importgeval van EVD van groot belang. Bij deze voorbereiding behoren het formuleren en handhaven van een casusdefinitie, het logistiek organiseren van de isolatie van potentiële patiënten en de diagnostiek met WHO-referentietesten. Dit overzichtsartikel bespreekt de huidige kennis op het gebied van EVD betreffende diagnostiek, epidemiologie, kliniek en pathogenese. Tevens is er aandacht voor de huidige inzichten in de behandeling van EVD-patiënten en worden de nieuwe experimentele behandelwijzen besproken.

Trefwoorden

Ebola, Ebola viral disease, hemorrhagische koorts

Introductie

Op 8 augustus 2014 heeft de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) de uitbraak van Ebola viral disease (EVD) in West-Afrika verklaard tot Public Health Emergency of International Concern (PHEIC).¹ Sinds de aanvaarding in 2005 van de International Health Regulations door 194 lidstaten van de WHO is dit de derde PHEIC die is uitgeroepen (eerder werd een PHEIC uitgeroepen voor de opkomst van pandemische H1N1 in 2009 en verspreiding van wild-type poliovirus in 2014). De verklaring van de epidemie tot PHEIC geeft aan dat de EVD-uitbraak in West-Afrika een buitengewoon zorgwekkend verloop heeft, en internationale actie en alertheid noodzakelijk is. Op het moment van schrijven (25 oktober 2014) zijn er 10.141 verdachte en bevestigde gevallen waaronder 4922 doden gemeld in Guinee, Liberia, Nigeria en Sierra Leone. Verder zijn er geïmporteerde gevallen van EVD gemeld in Senegal, Mali, Spanje en de Verenigde Staten. Een grote onderrapportage wordt verondersteld.² De huidige uitbraak van EVD

is de grootste tot nu toe en tevens de eerste grote uitbraak in West-Afrika. Tegelijkertijd is in augustus 2014 een tweede, niet gerelateerde, uitbraak van EVD gerapporteerd in de Democratische Republiek Congo (DRC). Door de klinische impact, het zeer ernstige klinische beloop en de potentiële geschiktheid van het virus om als biologisch wapen te dienen is de afgelopen 15 jaar relatief veel onderzoek verricht naar de pathogenese en het klinisch beloop van EVD.² In dit overzichtsartikel wordt aandacht besteed aan de actuele kennis over het virus, de epidemiologie, kliniek, diagnostiek, betekenis voor de openbare gezondheidszorg, pathogenese en behandeling van EVD met als doel een actualisering te geven van de huidige stand van zaken.

Virologie

De huidige uitbraak in West-Afrika wordt veroorzaakt door het Zaïre Ebolavirus (EBOV). EBOV behoort tot het genus *Ebolavirus* dat samen met het genus *Marburgvirus* de familie van de *Filoviridae* vormt. De *Filoviridae* behoren verder tot de orde van de *Mononegavirales* die verder ook leden van de *Borna-*, *Paramyxo-* en *Rhabdoviridae* omvat. Ebolavirussen zijn lineaire, 'negative stranded' RNA-virussen met een genoom van ongeveer 19 kilobasen. Morfologisch zien deze virussen er onder de elektronenmicroscopie uit als partikels van langgerekte filamenten, waarbij sommige virusdeeltjes een haarspeldvorm aannemen of meer lijken op het cijfer 6 met een lichte buiging in het filament en een gesloten cirkel aan de onderzijde. Er zijn momenteel vijf species die tot het genus *Ebolavirus* behoren, namelijk: EBOV, Sudan Ebolavirus (SUDV), Reston Ebolavirus (RESTV), Tai forest Ebolavirus (TAFV) en Bundibugyo Ebolavirus (BDBV).³ Het genus dankt zijn naam aan de ontdekking in 1976, waarbij een op het *Marburgvirus* lijkende verwekker werd geïsoleerd uit het bloed van patiënten die ernstig ziek waren geworden tijdens een uitbraak van hemorrhagische koorts.⁴ De uitbraak vond plaats in het dorpje Yambuku

M. Goeijenbier, C.B.E.M Reusken, B.E.E. Martina, J. van Kampen, E.C.M van Gorp, afdeling Viroscience, Erasmus MC, Rotterdam, M.P.G. Koopmans, afdeling Viroscience, Erasmus MC, Rotterdam en Cib, RIVM. Correspondentieadres: e.vangorp@erasmusmc.nl.

in het voormalige Zaïre (nu Democratische Republiek of de Congo), gelegen vlakbij de rivier de Ebola.⁵ Sinds 1976 zijn er meerdere EVD-uitbraken geweest, voornamelijk veroorzaakt door EBOV en SUDV met een mortaliteit variërend tussen de 50 en 90 procent.⁶ De huidige uitbraak wordt veroorzaakt door EBOV dat in de afgelopen decennia vanuit Centraal-Afrika in West-Afrika is terechtgekomen.⁷

Epidemiologie

In de regio in West-Afrika waar de huidige uitbraak plaatsvindt (figuur 1) komen regelmatig uitbraken voor van viraal hemorrhagische koorts (VHK) zoals het endemische lassakoorts, een ernstige vorm van VHF die wordt veroorzaakt door een arenavirus en via de veeltepelmuus (*Mastomys natalensis*) wordt overgedragen op de mens.⁸ Eerder is een enkele EVD-casus beschreven van een onderzoekster die besmet raakte met het TAFV na onderzoek (necropsie) van een geïnfecteerde chimpansee.⁹ Uitbraken van Ebola ontstaan vooral in afgelegen dorpjes gelegen dichtbij of in de tropische regenwouden. De eerste uitbraken van EVD in DRC en Sudan, veroorzaakt door EBOV en SUDV, bleven beperkt tot een klein gebied.¹⁰ Tussen 1979 en 1994 werden geen uitbraken gemeld, maar daarna nam het aantal uitbraken toe, en werden in Uganda en Ivoorkust respectievelijk BDBV en TAFV als nieuwe Ebolavirussen ontdekt.⁶ Oorzaken die genoemd worden voor de toename van uitbraken zijn onder andere ontbossing, toegenomen consumptie van 'bush meat (ook wel game meat, vlees van niet-gedomesticeerde dieren)' en transport door eerder onbegaanbare gebieden.³ De huidige uitbraak verschilt met alle eerdere uitbraken gezien het feit dat deze zich (snel) naar omliggende gebieden heeft kunnen verspreiden.

Figuur 1. Overzicht van de huidige EVD-uitbraak (gebaseerd op data CDC)³⁴



EVD is een zoönose en voor elke EVD-uitbraak is een enkele introductie vanuit het dierenrijk vereist, welke voor de huidige uitbraak vermoedelijk in december in Guinee heeft plaatsgevonden. Inmiddels is bekend dat de eerste bekende patiënt bush meat heeft geconsumeerd voordat hij de eerste symptomen van EVD ontwikkelde.¹¹ De exacte route van transmissie, voor deze eerste introductie naar de mens, is (nog) niet bekend. Vooral nog lijkt het dat deze ontstaat na contact met (mens)apen bijvoorbeeld ten gevolge van de jacht of, zoals het geval bij de indexcasus, het consumeren van bush meat. Tevens is in 2005 aangetoond dat drie soorten vruchtenetende vleermuizen (zogenoemde 'Fruit bats', *Hypsignathus monstrosus*, *Epomops franqueti* en *Myonycteris torquata*) zeer waarschijnlijk dienen als reservoir van Ebolavirussen.¹² Deze theorie werd later bevestigd door een bewezen humaan geval van EVD ontstaan na contact met een vleermuis.¹³ Gezien de hoge viremie en de uitscheiding in lichaamsvloeistoffen (speeksel, urine, ontlasting, zweet) kan EVD gemakkelijk worden overgedragen bij nauw contact met zieke personen zonder beschermende kleding. Deze eigenschap zorgt met name in de huidige uitbraak voor grote problemen door de slechte hygiënische omstandigheden in het getroffen gebied. Daardoor, en door gebrek aan middelen voor persoonlijke bescherming is het risico op infectie bij mensen werkzaam in de zorg voor EVD-patiënten in de regio hoog. Beroepsgerelateerde infecties hebben tevens plaatsgevonden tijdens de zorg voor EVD-patiënten in de VS en Spanje. Tevens blijkt uit de huidige uitbraak dat enkele culturele aspecten een belangrijke rol spelen in het gemak van verspreiding. De rol van dorpsoudsten en de argwanende houding ten opzichte van de professionele zorg zijn hier belangrijke voorbeelden van. Tevens kan besmetting met EVD nog optreden na het overlijden van een patient, hierdoor vormen traditionele begrafenisseren een groot risico voor verdere verspreiding van het virus.¹⁴

Kliniek en pathogenese

De incubatietijd van EVD kan variëren van 2 tot 21 dagen, maar ligt veelal tussen 4 en 10 dagen na besmetting.^{3,15} Patiënten ontwikkelen over het algemeen in eerste instantie een beeld met aspecifieke virale prodromen zoals koorts, myalgie, algehele malaise en koude rillingen en braken en diarree, gevolgd door een snelle klinische achteruitgang, met multiorgaanfalen (MOF) met hoge mortaliteit als gevolg. Na de eerste periode met aspecifieke klachten ontstaan na enkele dagen klachten van het gastro-intestinale- (misselijkheid, buikpijn, braken en diarree), neurologische- (hoofdpijn, bewustzijnsdaling en coma), respiratoire- (kortademigheid, hoesten, rinorroe) en cardiovasculaire-systeem (shock en oedeemvorming). Tijdens de piek van de ziekteverschijnselen ontstaan hierbij in ongeveer de helft van de gevallen de kenmerkende

Tabel 1. Symptomen die vrijwel bij elke geregistreeerde EVD-casus aanwezig zijn (linkerkolom) en die (veelal) beschreven zijn in de literatuur bij EVD-gevallen (rechterkolom).

| Symptomen vrijwel altijd aanwezig bij EVD | Symptomen beschreven bij EVD |
|-------------------------------------------|------------------------------------|
| Koorts > 38,5 | Uitslag (maculopapuleus exantheem) |
| Ernstige hoofdpijn | Conjunctivitis |
| Myalgie | Singultus (hik) |
| Gegeneraliseerd krachtsverlies | Hoesten |
| Diarree | Keelpijn |
| Nausea en braken | Pijn op de borst |
| (Hevige) buikpijn | Dyspnoe |
| Anorexie | Dysfagie |
| | Spontane bloedingen |

en veelal zeer ernstige hemorragische symptomen.^{3,15,16} Tussen dag 5 en 7 na het ontstaan van symptomen kan een typische maculopapuleuze uitslag optreden bij EVD-patiënten.³ Een overzicht van de symptomen bij EVD staan samengevat in *tabel 1*.

Laboratoriumonderzoek richt zich op de verschillende orgaansystemen (lever, nier), hematologische bepalingen en ontstekingsmarkers. Veelvoorkomende afwijkingen zijn een leuko- (met name een afname in het aantal neutrofielen) en lymfopenie en een forse stijging van de leverenzymen (ASAT, ALAT). Daarnaast wordt in het grootste deel van de EVD-gevallen een trombocytopenie waargenomen. In de aanvullende testen worden zowel een verlenging van de protrombinetijd als een verlenging van de geactiveerde partiële tromboplastinetijd gezien, hetgeen veelal wijst op een consumptieve coagulopathie met tevens ook aanwezigheid van fibrineafbraakproducten. Dit beeld past bij een diffuse intravasale stolling (DIS), wat geassocieerd is met MOF en sterfte.^{3,15,16}

EVD-patiënten overlijden veelal tussen dag 6 en 16 na de start van symptomen. Patiënten overlijden aan de gevolgen van shock, bloedingen en multiorgaanfalen. Indien klinische verbetering optreedt loopt dit synchroon met de antistofrespons en treedt op tussen dag 6 en 11.³ De literatuur suggereert dat patiënten die herstellen van EVD op de langetermijn problemen kunnen ontwikkelen zoals recidiverende hepatitis, myelitis, psychose en uveitis.^{3,15,16} Het ontstaan van ziekte is een complex samenspel van het virus, de gastheer en zijn omgeving. De porte d'entree van het Ebolavirus bij de mens zijn: slijmvliezen, openingen en verwondingen aan de huid of via parenterale besmetting. Infectie via de intacte huid is onwaarschijnlijk, maar niet uitgesloten. Het virus is succesvol geïsoleerd uit de huid (biopt), lichaamsvloeistoffen en neusspoelsel van experimenteel geïnfecteerde primaten.¹⁷ In de afgelopen

decennia zijn enkele laboratoriumbesmettingen na prikaccidenten of onbeschermd contact met besmette materialen gedocumenteerd.³

De pathogenese van EVD is onderzocht in experimenteel onderzoek in knaagdieren, primaten en in celmodel-experimenten. Allereerst is er een duidelijk verschil in virulentie tussen de verschillende Ebolavirussen. Zo lijkt RESTV weinig of zelfs niet pathogeen voor de mens, terwijl EBOV gepaard gaat met ernstige ziekte en een mortaliteit variërende tussen de 50 en 90 procent. Na het binnendringen van het lichaam kunnen Ebolavirussen een breed scala aan cellen infecteren. Post-mortemonderzoek van overleden patiënten en experimenteel geïnfecteerde proefdieren heeft aangetoond dat Ebolavirussen in staat zijn verschillende cellen van het immuunsysteem (macrofagen, monocyt en dendritische cellen), epitheel, endotheel, fibroblasten, hepatocyten en cellen van de bijnier effectief te infecteren.^{3,18} De virussen kunnen zich effectief in de meeste van deze cellen vermenigvuldigen wat leidt tot een hoge viremie.¹⁸ Infectie leidt tot ernstige orgaanpathologie met multifocale necrose voornamelijk in de lever, milt, nieren en geslachtsorganen wat logischerwijs bijdraagt aan het optreden van orgaanfalen.¹⁸ Hoewel het exacte mechanisme waarmee de drastische EVD-symptomen worden veroorzaakt niet bekend is lijken cytokines, geproduceerd door geïnfecteerde cellen, endotheel disfunctie en de daaraan gerelateerde dysregulatie van het coagulatiesysteem verantwoordelijk te zijn voor de ontsporing van de inflammatoire en hemostase-respons, resulterend in multiorgaanfalen.^{3,19}

Er zijn aanwijzingen dat niet elke infectie leidt tot ernstige symptomen. Leroy en collega's bespraken reeds in 2000, in het tijdschrift *Lancet*, een cluster van asymptomatische infecties binnen een groep mensen blootgesteld aan een EVD-patiënt. Van deze 24 contacten bleken er 11 asymptomatisch geïnfecteerd, waarbij zich een IgM- en IgG-respons ontwikkelde en tevens een milde viremie (lage RNA-niveaus) tussen dag 7 en 16 na blootstelling (waarbij in acht moet worden genomen dat dag 7 tevens het eerste moment van bemonstering was).²⁰ De groep van asymptomatisch patiënten en de groep van niet fatale EVD-patiënten zijn interessant voor verder begrip van de pathogenese van EVD. Zo blijken fatale EVD-gevallen een hogere piek in de viremie te hebben, hogere levels van pro-inflammatoire cytokines en tevens geen of een zeer lage antistofrespons.²¹ Tevens bieden de groepen van asymptomatische of overlevende patiënten een mogelijke bron van neutraliserende antistoffen die eventueel kunnen worden gebruikt voor EVD-behandeling.

Diagnostiek

Momenteel werkt het European center for disease control (ECDC) aan een casusdefinitie die zeer waarschijnlijk door het LCI en RIVM zal worden overgenomen.³ Tevens is een

overzicht van de internationaal gebruikte casusdefinities beschikbaar.³² In de huidige richtlijn, gebaseerd op de Marburg-casus in 2008, is een patiënt een verdachte EVD-patiënt mits deze koorts boven de 38 graden en/of bloedingen heeft ontwikkeld in de afgelopen 24 uur en in de afgelopen 21 dagen een bezoek aan het uitbraakgebied heeft gebracht of in contact is geweest met van EVD verdachte patiënten of dieren. Een geconfirmeerde patiënt voldoet aan dezelfde eisen, waarbij tevens door een laboratoriumtest (dan wel door sequencing en/of een positieve PCR-uitslag op verschillende targets) de diagnose is geconfirmeerde. Tevens dient de diagnose te worden geconfirmeerde door een tweede onafhankelijk laboratorium, gezien de betekenis van een geïmporteerd EVD-geval en de zeldzaamheid van de diagnose. De acute diagnostiek wordt internationaal verricht met genoomdetectie via RT-PCR. Voor het voorkomen van verdere verspreiding is vroege diagnostiek een absolute vereiste. Het virale genoom kan vanaf 48 uur na symptoomontwikkeling zowel in een fatale als in een niet-fatale casus worden aangetoond. In de eerste 48 uur sluit een negatieve uitslag de diagnose niet uit. Virusisolatie en virusneutralisatietesten kunnen uitsluitend worden uitgevoerd in BSL 4-laboratoria. Antistof testen (IgM en IgG) lijken met name van belang voor het beantwoorden van surveillance en epidemiologische vraagstukken en spelen geen rol in de acute diagnostiek. Over het algemeen ontstaan IgM-antistoffen al in de eerste twee dagen na het ontstaan van symptomen en verdwijnen deze na 30 tot 168 dagen na de start van symptomen.²² De IgG-respons komt doorgaans op gang vanaf dag 6 en houdt aan tot vele jaren na infectie.²² In Nederland is het Erasmus MC het referentielaboratorium (WHO) voor de diagnostiek van verschillende VHKs. Indien van EVD verdacht materiaal wordt ingestuurd zullen onder BSL3-condities de materialen worden geïnactiveerd, waarna onder BSL2-condities Ebolavirusdiagnostiek (PCR) wordt verricht. Tevens zal een malaria- en leptospirosesneltest worden uitgevoerd onder BSL3-omstandigheden, gezien het feit dat deze infecties een directe behandelconsequentie hebben. Materiaal wordt tevens naar een ander referentiecentrum (P4-centrum) gestuurd voor parallel testen voor onafhankelijke bevestiging van positieve en negatieve uitslagen.³³ EVD- en Marburg-diagnostiek (met RT-PCR) worden verricht op serum. Indien beschikbaar worden tevens feces en urine getest. Uitslagen van de testen en eventuele herhaling van de diagnostiek gebeurt na overleg tussen behandelaar en het LCI. Materiaal van Ebola/Marburgverdachte patiënten mag niet anders dan met een gecertificeerde koerier (Biologistics) worden verstuurd en dient altijd te worden verpakt volgens het 'bag-in-bag'-principe zoals beschreven op de website van het RIVM.

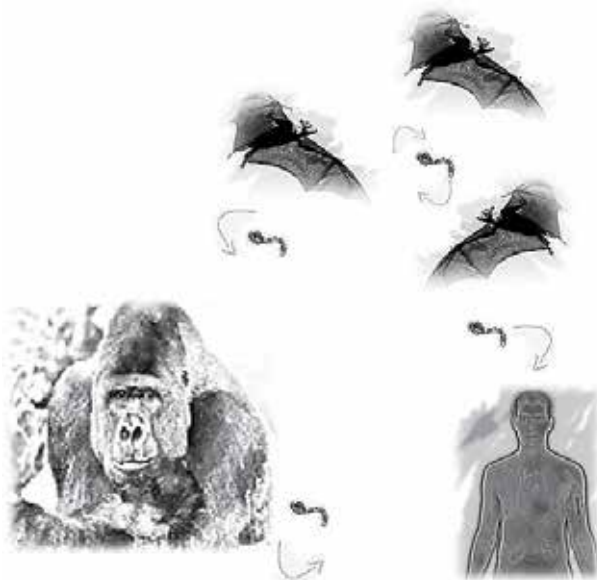
Behandeling

Op dit moment bestaat de behandeling van EVD-patiënten uitsluitend uit ondersteunende en symptomatische behandeling.²³ Hierbij is het op peil houden van de hemodynamiek en hemostase de hoeksteen van de behandeling. Indien deze behandeling vroeg in de symptomatische fase wordt aangevangen, wordt de overlevingskans aanzienlijk vergroot. Ribavirine, het enige geneesmiddel dat bewezen effectief is tegen enkele VHK-verwekkers zoals lassakoorts, blijkt niet effectief te zijn tegen Ebolavirussen.²⁴ Enkele nieuwe behandelingen bevinden zich nog in de onderzoeksfase, maar laten een gunstig effect zien in dierexperimenteel onderzoek. Gezien de ernst en omvang van de huidige uitbraak heeft de WHO besloten dat het, gedurende deze uitbraak, ethisch verantwoord is de beschikbare experimentele behandelingen te gebruiken bij behandeling of preventie van EVD. Deze middelen zijn echter slechts in zeer beperkte omvang beschikbaar. Veelbelovende behandelingen zijn: ZMapp, favipiravir, BCX-4430, AVI-6002 en TKM-Ebola. ZMapp, een samenvoeging van 3 monoklonale antistoffen tegen het Ebolavirus, lijkt effectief het virus te neutraliseren en de uitkomst van infectie drastisch te verbeteren. ZMapp blijkt in staat geïnfecteerde rhesusmakaken in 100 procent van overlijden te behoeden indien toegediend na infectie.²⁵ Het middel is echter slechts in zeer kleine hoeveelheden voorradig. Favipiravir, in Japan geregistreerd voor de behandeling van influenza,²⁶ is in preklinische studies werkzaam tegen meer RNA-virussen, inclusief het Ebolavirus en werkt als een nucleoside-analoog (RNA chain termination en/of lethal mutagenesis).²⁷ Hoe eerder, na infectie, de behandeling met favipiravir wordt gestart, des te groter de overlevingskansen van de patiënt. Fase 2 en 3 klinische onderzoeken voor favipiravir zijn in voorbe-

Tabel 2. Overzicht van de WHO-referentiediagnostiek beschikbaar bij het Erasmus MC voor de virale hemorrhagische koortsen (VHK) met de hoogste biologische veiligheidsklasse. CCHF = Crimeon Congo Hemorrhagic Fever. Tevens is diagnostiek beschikbaar voor de overige VHK's (Rift Valley Fever, Hantavirus en Dengue hemorrhagische koorts).

| Pathogeen | Type assay | Beschikbaar sinds | Controle |
|-------------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|
| Ebola | RT-PCR (Sybr green) Sequencing | 2003 | 2x per jaar + externe controle |
| Marburg | RT-PCR (Taqman) | 2008 | 2x per jaar + externe controle |
| Lassakoorts | RT-PCR (Sybr green) Sequencing | 2003 | 2x per jaar + externe controle |
| CCHF | RT-PCR (Taqman) | 2010 | 2x per jaar + externe controle |

Figuur 2. De exacte transmissieroute van de eenmalige introductie van het dierenrijk naar de mens is (nog) niet bekend. Vruchtenetende vleermuizen zijn zeer waarschijnlijk een reservoir van het Ebolavirus waarnaast ook het contact en consumptie (bush meat) met en van (mens)apen wordt genoemd. Na introductie van het Ebolavirus bij de mens kan Ebola viral disease (EVD) ontstaan waarna vervolgens mens-op-mens-overdracht kan plaatsvinden door middel van geïnfecteerde lichaamsvloeistoffen. Deze transmissie wordt gefaciliteerd door de hoge viremie tijdens EVD. Deze overdracht lijkt enkel plaats te vinden via lichaamsvloeistoffen en niet via aerosolen (airborne transmissie).



reiding. Ook BCX-4430 (RNA chain termination) is bewezen effectief tegen het Marburgvirus in een niet-humaan primatenmodel.²⁸ Ten slotte is er TKM-Ebola, dat werkt door middel van een Ebolaspecifiek silencing RNA en AVI-6002, dat werkt als een Ebolaspecifiek antisense-RNA; beide zijn werkzaam tegen Ebolavirus-infecties in muizen en primaten.^{29,30}

Conclusie

De omvang en snelle verspreiding van EBOV zijn reden voor verhoogde alertheid van medici die te maken krijgen met personen met koorts na een reis naar het gebied waar EBOV heerst. Vanwege de besmettelijkheid is goede voorbereiding nodig, waarvoor landelijke en lokale protocollen zijn ontwikkeld. Momenteel is de hoeksteen van behandeling het snel starten van ondersteunende therapie, waarbij met name vochttoediening de kans op overleven doet toenemen. Overige behandelingen bevinden zich nog in de experimentele fase. De huidige EBOV-uitbraak toont de noodzaak aan voor adequate isolatiemogelijkheden, niet alleen in endemische landen, maar ook in landen waar EVD als importziekte kan worden geïntroduceerd. Hieraan gekoppeld is er noodzaak voor toegang tot adequate diagnostische faciliteiten en ten slotte klinische faciliteiten voor behandeling.

Referenties

1. Briand S, Bertherat E, Cox P, et al. The International Ebola Emergency. *N Engl J Med.* 2014;371:1180-3.
2. Leroy EM, Gonzalez JP, Baize S. Ebola and Marburg haemorrhagic fever viruses: major scientific advances, but a relatively minor public health threat for Africa. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17:964-76.
3. Feldmann H, Geisbert TW. Ebola haemorrhagic fever. *Lancet.* 2011;377:849-62.
4. Emond RT, Evans B, Bowen ET, Lloyd G. A case of Ebola virus infection. *Br Med J.* 1977;2:541-4.
5. Johnson KM, Lange JV, Webb PA, Murphy FA. Isolation and partial characterisation of a new virus causing acute haemorrhagic fever in Zaire. *Lancet.* 1977;1:569-71.
6. Muyembe-Tamfum JJ, Mulangu S, Masumu J, Kayembe JM, Kemp A, Paweska JT. Ebola virus outbreaks in Africa: past and present. *Onderstepoort J Vet Res.* 2012;79(2):451.
7. Baize S, Pannetier D, Oestereich L, et al. Emergence of Zaire Ebola Virus Disease in Guinea – Preliminary Report. *N Engl J Med.* 2014;371:1418-25.
8. Goeijenbier M, Wagenaar J, Goris M, Martina B, Henttonen H, Vaheri A, et al. Rodent-borne hemorrhagic fevers: under-recognized, widely spread and preventable – epidemiology, diagnostics and treatment. *Crit Rev Microbiol.* 2013;39:26-42.
9. Le GB, Formenty P, Wyers M, Gounon P, Walker F, Boesch C. Isolation and partial characterisation of a new strain of Ebola virus. *Lancet.* 1995;345:1271-4.
10. Cox NJ, McCormick JB, Johnson KM, Kiley MP. Evidence for two subtypes of Ebola virus based on oligonucleotide mapping of RNA. *J Infect Dis.* 1983;147:272-5.
11. Gatherer D. The 2014 Ebola virus disease outbreak in West Africa. *J Gen Virol.* 2014;95:1619-24.
12. Leroy EM, Kumulungui B, Pourrut X, Rouquet P, Hassanin A, Yaba P, et al. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature.* 2005;438:575-6.
13. Leroy EM, Epelboin A, Mondonge V, et al. Human Ebola outbreak resulting from direct exposure to fruit bats in Luebo, Democratic Republic of Congo, 2007. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009;9:723-8.
14. Frieden TR, Damon I, Bell BP, Kenyon T, Nichol S. Ebola 2 - new challenges, new global response and responsibility. *N Engl J Med.* 2014;371:1177-80.
15. Kortepeter MG, Bausch DG, Bray M. Basic clinical and laboratory features of filoviral hemorrhagic fever. *J Infect Dis.* 2011;204:S810-S816.
16. Hartman AL, Towner JS, Nichol ST. Ebola and marburg hemorrhagic fever. *Clin Lab Med.* 2010;30:161-77.
17. Hofmann-Winkler H, Kaup F, Pohlmann S. Host cell factors in filovirus entry: novel players, new insights. *Viruses.* 2012;4:3336-62.
18. Mahanty S, Bray M. Pathogenesis of filoviral haemorrhagic fevers. *Lancet Infect Dis.* 2004;4:487-98.
19. Goeijenbier M, van Wissen M, van de Weg C, et al. Review: Viral infections and mechanisms of thrombosis and bleeding. *J Med Virol.* 2012;84:1680-96.
20. Leroy EM, Baize S, Volchkov VE, Fisher-Hoch SP, Georges-Courbot MC, Lansoud-Soukate J, et al. Human asymptomatic Ebola infection and strong inflammatory response. *Lancet.* 2000;355:2210-5.
21. McElroy AK, Erickson BR, Flietstra TD, et al. Ebola hemorrhagic fever: novel biomarker correlates of clinical outcome. *J Infect Dis.* 2014;210:558-66.
22. Rowe AK, Bertolli J, Khan AS, Mukunu R, Muyembe-Tamfum JJ, Bressler D, et al. Clinical, virologic, and immunologic follow-up of convalescent Ebola hemorrhagic fever patients and their household contacts, Kikwit, Democratic Republic of the Congo. *Commission de Lutte contre les Epidemies a Kikwit. J Infect Dis.* 1999;179:S28-S35.
23. Fowler RA, Fletcher T, Fischer Ii WA, Lamontagne F, Jacob S, Brett-Major D, et al. Caring for Critically Ill Patients with Ebola Virus Disease: Perspectives from West Africa. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;190:733-7.

24. Jahrling PB, Geisbert TW, Geisbert JB, Swearingen JR, Bray M, Jaax NK, et al. Evaluation of immune globulin and recombinant interferon- α 2b for treatment of experimental Ebola virus infections. *J Infect Dis.* 1999;179:S224-34.
25. Qiu X, Wong G, Audet J, Bello A, Fernando L, Alimonti JB, et al. Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp. *Nature.* 2014;514:47-53.
26. Furuta Y, Gowen BB, Takahashi K, Shiraki K, Smee DF, Barnard DL. Favipiravir (T-705), a novel viral RNA polymerase inhibitor. *Antiviral Res.* 2013;100:446-54.
27. Smither SJ, Eastaugh LS, Steward JA, Nelson M, Lenk RP, Lever MS. Post-exposure efficacy of oral T-705 (Favipiravir) against inhalational Ebola virus infection in a mouse model. *Antiviral Res.* 2014;104:153-5.
28. Warren TK, Wells J, Panchal RG, Stuthman KS, Garza NL, Van Tongeren SA, et al. Protection against filovirus diseases by a novel broad-spectrum nucleoside analogue BCX4430. *Nature.* 2014;508:402-5.
29. Warren TK, Warfield KL, Wells J, Swenson DL, Donner KS, Van Tongeren SA, et al. Advanced antisense therapies for postexposure protection against lethal filovirus infections. *Nat Med.* 2010;16:991-4.
30. Geisbert TW, Lee AC, Robbins M, Geisbert JB, Honko AN, Sood V, et al. Postexposure protection of non-human primates against a lethal Ebola virus challenge with RNA interference: a proof-of-concept study. *Lancet.* 2010;375:1896-905.
31. http://www.who.int/csr/don/2014_08_28_Ebola/en, http://www.who.int/csr/don/2014_08_30_Ebola/en
32. <http://who.int/csr/resources/publications/Ebola/Ebola-case-definition-contact-en>
33. <http://www.rivm.nl/dsresource?objectid=rivmp:256449&type=org&disposition=inline>
34. <http://www.cdc.gov/vhf/Ebola/resources/distribution-map-guinea-outbreak.html>

**Amsterdam
16-18 April 2015**

2nd Announcement

**2nd ELS meeting on leptospirosis
and other rodent borne haemorrhagic fevers**

**Royal Tropical Institute (KIT)
Amsterdam, The Netherlands**

www.els2015.eu

Confirmed key note speakers

| | |
|-------------------------------|---------------------------------|
| B. Adler, Australia | B.E.E. Martina, the Netherlands |
| Y.V. Ananyina, Russia | G.F. Mgode, Tanzania |
| M.G.A. Goris, the Netherlands | J.E. Nally, United States |
| K. Hartmann, Germany | M. Picardeau, France |
| H. Henttonen, Finland | N. Turk, Croatia |
| A. Lundkvist, Sweden | J.A. Wagenaar, the Netherlands |

De waarde van moleculaire Mycobacterium tuberculosis-diagnostiek: side-kick of first choice?

P.F.G. Wolffs, P.H.M. Savelkoul

Trefwoorden

Tuberculosediagnostiek, moleculaire diagnostiek, PCR

Inleiding

Moleculaire diagnostiek, en met name het gebruik van real-time PCR, is in de afgelopen twee decennia binnen de Nederlandse medische microbiologische laboratoria uitgegroeid van een noviteit tot een routinematig gebruikte microbiologische techniek. Dit geldt ook voor het gebruik van PCR voor detectie van *Mycobacterium tuberculosis*-complex (MTBC). Het grootste voordeel van het gebruik van moleculaire diagnostiek voor MTBC is de snelheid waarmee een uitslag kan worden gegenereerd. Het uitvoeren van een PCR-test van materiaal tot resultaat kost normaliter enkele uren, in tegenstelling tot de MTBC-kweek die 5 dagen tot 6 weken in beslag neemt. De tijd tot het verkrijgen van een resultaat is van belang voor het instellen van adequate therapie. Andere voordelen van de PCR zijn dat de analytische sensitiviteit van de PCR hoog is en dat deze technologie eenvoudig kan worden geautomatiseerd. Tevens wordt de PCR, in tegenstelling tot de Ziehl-Neelsen microscopische kleuring, niet gehinderd door de aanwezigheid van hiv.¹ In een eerdere studie beschreven we dat door een PCR te ontwikkelen tegen het interspacer 6110-element waarvan meerdere kopieën in een MTBC-genoom aanwezig zijn, de detectielimiet tot 25 fg MTBC-DNA kan worden teruggebracht.² Ondanks alle genoemde voordelen wordt de PCR in veel Nederlandse laboratoria niet systematisch ingezet voor MTBC-diagnostiek, en vrijwel alleen gebruikt naast de gouden standaardmethoden: de kweek en directe microscopische kleuringen. Dit is in overeenstemming met de NVMM-richtlijn voor tuberculosediagnostiek uit 2006.³ In deze richtlijn is aangegeven dat het in stand houden van de kweek belangrijk is vanwege het testen op resistentie voor tuberculostatica en omdat de sensitiviteit van diverse destijds gebruikte commerciële PCR's (bijv. Cobas Amplicor, Roche Diagnostics) op respiratoire materialen varieert tussen de 57 en 86 procent.⁴⁻⁶ Anno 2014 zijn de in de richtlijn beschreven moleculaire testen veelal vervangen door een volgende generatie commerciële testen zoals de door de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) in endemische landen aanbevolen GeneXpert MTB/RIF-test (Cepheid Diagnostics, Sunnyvale, CA, USA). Nederlandse laboratoria

maken daarnaast veelvuldig gebruik van inhouseprotocollen voor moleculaire diagnostiek van MTBC. De vraag wordt daarmee actueel of de positie die de huidige moleculaire MTBC-diagnostiek inneemt binnen de officiële tuberculosediagnostiek dient te worden heroverwogen.

Nieuwe generatie moleculaire testen voor MTBC

De meest bestudeerde moleculaire test voor MTBC-diagnostiek is de GeneXpert MTB/RIF-test. Deze volledig geautomatiseerde test is goedgekeurd door de FDA, uitgebreid onderzocht in hoogendemische gebieden en aanbevolen door de WHO in een verklaring voor MTBC-verdachte hivpositieve patiënten of in het geval van een verdenking op een infectie met MDR-TBC.⁷ Een in 2013 gepubliceerde Cochrane-review laat zien dat de Xpert-test op kweekpositieve, microscopiepositieve materialen een gepoolde sensitiviteit heeft van 98 procent (97 tot 99) en op microscopienegatieve materialen van 67 procent (60 tot 74) en een specificiteit van 99 procent (98 tot 99).⁸ Tevens laat deze review zien dat de test de detectie van MTBC met 23 procent verhoogt in vergelijking met de microscopie in kweekpositieve materialen. Deze review was grotendeels gebaseerd op studies verricht in MTBC-endemische landen. De uiteindelijke gepoolde sensitiviteit in deze studie bleek echter niet in belangrijke mate te worden beïnvloed door de inkomensstatus van het land, en was daarmee grotendeels onafhankelijk van de mate van MTBC-endemiciteit. Tebruegge *et al.* lieten in een recent overzicht zien dat de GeneXpert ook in Europa veel wordt gebruikt en dat 45 procent van 191 onderzochte laboratoria in 31 landen zelf deze test uitvoerden.⁹ Daarnaast liet datzelfde onderzoek zien dat 47 procent van de laboratoria gebruikmaakten van andere commerciële

P.F.G. Wolffs, afdeling Medische Microbiologie, Maastricht Universitair Medisch Centrum, Maastricht,
P.H.M. Savelkoul, afdeling Medische Microbiologie, Maastricht Universitair Medisch Centrum, Maastricht en afdeling Medische Microbiologie en Infectiepreventie, VUmc, Amsterdam.
Correspondentieadres: P.H.M. Savelkoul, afdeling Medische Microbiologie, Maastricht Universitair Medisch Centrum, Maastricht, e-mailadres: paul.savelkoul@mumc.nl.

testen en 21 procent van de laboratoria van inhouse PCR-testen. In Nederland worden veelvuldig inhouse PCR-testen toegepast. Enerzijds wordt het gebruik van deze testen verklaard door de hogere kosten van commerciële testen in vergelijking met inhouse testen. Anderzijds is er ook eerder beschreven dat realtime PCR-testen gericht tegen de IS6110-interspaceregio een hogere sensitiviteit (tot 2-10 kopieën van het MTB-genoom) hebben dan de GeneXpert MTB/RIF-test, met name op microscopienegatieve niet-respiratoire materialen.¹⁰

Om meer zicht te krijgen op het routinematig gebruik van inhouse testen is vanuit de Werkgroep Moleculaire Diagnostiek van Infectieziekten (WMDI) tussen 2004 en 2006 een inhouse PCR gericht tegen de IS6110-interspaceregio in 6 Nederlandse ziekenhuizen vergeleken met microscopie en kweek. In deze studie zijn in een periode van 3 jaar 14360 materialen, waaronder 6371 respiratoire materialen (sputum, BAL vloeistoffen, keel en neusspoelsels) en 7989 niet-respiratoire materialen (zoals biopten), getest op aanwezigheid van MTBC.¹¹ De materialen zijn verzameld in het Gelre ziekenhuis te Apeldoorn, het Laboratorium voor infectieziekten te Groningen (momenteel bekend als Certe, Laboratorium voor Infectieziekten), het Streeklaboratorium Friesland te Leeuwarden (momenteel bekend als Izore, Centrum Infectieziekten Friesland), het VU medisch centrum te Amsterdam, het Jeroen Bosch Ziekenhuis te Den Bosch en het Streeklaboratorium voor Microbiologie in Twente en de Gelderse Achterhoek te Hengelo (voorheen Enschede). In alle zes centra zijn de materialen routinematig onderzocht met behulp van directe Ziehl-Neelsen- en auraminekleuringen, MTBC-kweek (volgens het in het betreffende laboratorium gebruikelijke routineprotocol) en dezelfde reeds eerder beschreven PCR gericht tegen het IS6110-interspacergebied.² De resultaten van deze studie lieten zien dat er in de zes centra samen in 702 van 14.360 materialen (4,9 procent) MTBC werd aangetoond met kweek en/of PCR (tabel 1). De directe microscopische kleuringen op alle materialen waren in

34 procent positief, in 56 procent negatief en in 10 procent niet uitgevoerd. Alle materialen die via directe kleuring positief werden bevonden, waren ook positief in de PCR en/of kweek. Vergelijkbaar met de data voor de Xpert-test, bleek uit deze studie dat de detectie in kweekpositieve materialen toenam (met 29 procent) bij gebruik van de PCR in plaats van de directe microscopie. In 427 materialen (3 procent van het totaal) waren zowel PCR als kweek positief, echter 275 materialen gaven een discrepante uitslag tussen kweek en PCR (1,9 procent van het totale aantal materialen en 39 procent van het totale aantal positieve materialen). Van deze discrepante uitslagen was in 47 procent van de gevallen de kweek positief en de PCR negatief, terwijl in 53 procent van de gevallen de kweek negatief was en de PCR positief. Dit ligt binnen de lijn der verwachtingen vanwege de kans op discrepantie bij het splitsen van het materiaal waarbij juist wel of niet een bacterie in het materiaal aanwezig is. Hiervoor wordt ook voor de kweek volgens de richtlijn aangedrongen op drie materiaalafnamen voor een betrouwbare diagnose. De resultaten lieten geen significante verschillen zien per laboratorium. Wanneer de resultaten werden uitgesplitst naar de twee typen materiaal (respiratoire en niet-respiratoire materialen), waren voor beide materiaalgroepen de resultaten zeer vergelijkbaar en werden er telkens meer positieven gedetecteerd door de PCR (tabel 1). Ten slotte hebben we in tabel 2 zowel de prestaties van de PCR ten opzichte van kweek als kweek ten opzichte van PCR vergeleken. De overeenkomst tussen beide testen is substantieel met kappawaarden van 0,70 en 0,72 voor respectievelijk respiratoire en niet-respiratoire materialen. Daarnaast is het ook mogelijk om beide ten opzichte van het totaal aan uitslagen (d.w.z. kweek en/of PCR positief) te berekenen. In dit geval resulteert dit voor zowel de kweek als de PCR in een sensitiviteit en specificiteit van respectievelijk 100 en 99 procent. Hierbij dient te worden opgemerkt dat directe microscopische kleuring enkel positief was in materialen die positief waren bevonden in PCR en/of kweek en dus geen extra positieve bevindingen opleverde, wat past bij de sensitiviteit van de microscopische kleuring.

Tabel 1. Overzicht van de MTBC-kweek en PCR-resultaten op microscopie positieve en negatieve materialen.

| | N | Directe Microscopie Negatief ^a | | | | Directe Microscopie Positief ^a | | | | Directe Microscopie Niet Uitgevoerd ^a | | | |
|------------------------------|-------|-------------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | | Kweek N PCR N | Kweek P PCR P | Kweek P PCR N | Kweek N PCR P | Kweek N PCR N | Kweek P PCR P | Kweek P PCR N | Kweek N PCR P | Kweek N PCR N | Kweek P PCR P | Kweek P PCR N | Kweek N PCR P |
| Totaal | 14360 | 11202 | 168 | 114 | 113 | 0 | 227 | 11 | 1 | 2456 | 32 | 5 | 31 |
| Respiratoire materialen | 6371 | 5849 | 55 | 39 | 48 | 0 | 115 | 2 | 1 | 241 | 13 | 1 | 13 |
| Niet-respiratoire materialen | 7989 | 5353 | 113 | 75 | 65 | 0 | 112 | 9 | 0 | 2215 | 19 | 4 | 19 |

^aKweek N: MTBC-kweek negatief, Kweek P: MTBC-kweek positief, PCR N: MTBC-PCR negatief, PCR P: MTBC-PCR positief

Tabel 2. Sensitiviteit en specificiteit van MTBC-kweek en PCR.

| Samples | PCR versus kweek | | Kweek versus PCR | |
|----------------------------------------------------|------------------|---------------|------------------|---------------|
| | Sensitiviteit | Specificiteit | Sensitiviteit | Specificiteit |
| Respiratoire materialen, Microscopie Positief | 98,3% | 100% | 100% | 100% |
| Respiratoire materialen, Microscopie Negatief | 58,5% | 99% | 53,4% | 99% |
| Niet-Respiratoire materialen, Microscopie Positief | 92,6% | 100% | 100% | 100% |
| Niet-Respiratoire materialen, Microscopie Negatief | 60% | 98,8% | 63,5% | 98,6% |
| Totaal, Microscopie Positief | 95% | 100% | 100% | 100% |
| Totaal, Microscopie Negatief | 60% | 99,8% | 60% | 99,8% |

Toepassing moleculaire diagnostiek MTBC detectie.

De resultaten van de huidige generatie PCR-testen, waarbij een goede sensitiviteit en specificiteit worden gekoppeld aan een hoge mate van betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid en vrijwel geen contaminatiegevoeligheid impliceren, maakt dat de PCR een waardevolle rol kan spelen in MTBC-diagnostiek. Een recente Amerikaanse kostenanalyse liet zien dat het systematisch toepassen van de Xpert MTB/RIF-test op ten minste één sputummonster, naast kweek en microscopie, de totale zorgkosten per patiënt verlaagde met US\$2673 en tevens de zorg optimaliseerde (met een toename van 6,32 QALY's/1000 van MTBC-verdachte patiënten).¹² Deze positieve bevindingen waren met name het gevolg van het eerder opheffen van isolatiemaatregelen bij van MTBC-verdachte patiënten, wat mogelijk werd door de hogere sensitiviteit van de PCR ten opzichte van de microscopie. De hogere diagnostische sensitiviteit van de PCR werd reeds aangetoond door diverse studies waaronder de Xpert Cochrane-review en de hier gepresenteerde Nederlandse multicenterstudie.^{8,13} Ook werd de kosteneffectiviteit van de resultaten bevestigd door diverse andere studies waarbij telkens de tijd tot het opheffen van isolatiemaatregelen significant kon worden verkort door het toepassen van moleculaire MTBC-diagnostiek.¹⁴⁻¹⁶ Net als in de genoemde studies, beveelt de Nederlandse WIP-richtlijn het gebruik van microscopische kleuringen en kweek aan voor het beoordelen van potentiële besmettelijkheid van de patiënt en worden alleen deze testen aangeraden voor het instellen en opheffen van isolatie.¹⁷ Gezien de genoemde resultaten dient naar onze mening ook het huidige Nederlandse beleid te worden heroverwogen.

Naast de vergelijking van de moleculaire diagnostiek met microscopische kleuringen, toonde de gepresenteerde data van de Nederlandse studie aan dat een inhouse PCR een vergelijkbare diagnostische opbrengst had als de MTBC-kweek. Daarbij zijn we er, vergelijkbaar met eerdere studies, van uitgegaan dat MTBC-positiviteit van een materiaal wordt bepaald door óf een positief PCR-resultaat en/of een positief kweekresultaat.¹⁸⁻²⁰ Indien de kweek niet zou zijn uitgevoerd, en alleen PCR zou zijn gebruikt, zouden 130 van de 14.360 materialen foutief

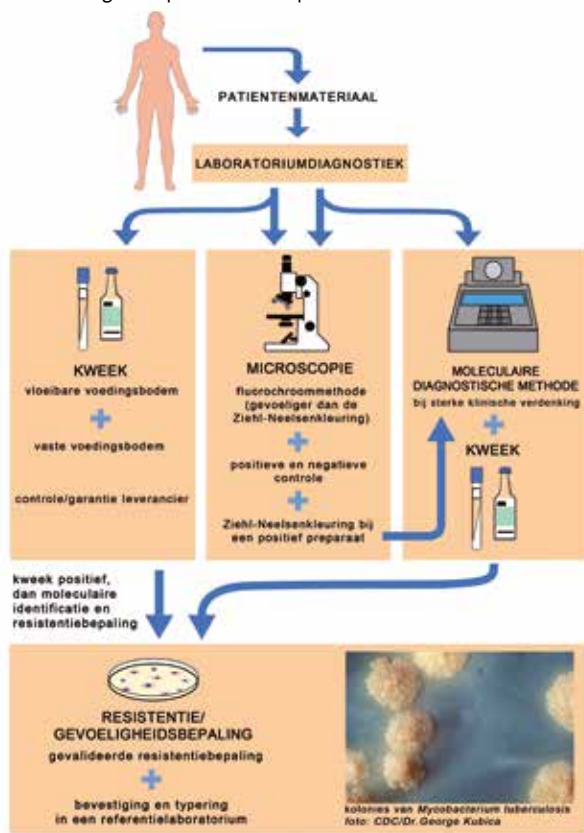
als negatief zijn gediagnosticeerd (0,9 procent). Wanneer PCR in combinatie met microscopische kleuringen zou zijn uitgevoerd dan zou het aantal fout-negatieve uitslagen dalen tot 119 van de 14.360 (0,8 procent). Ter vergelijking zou het uitvoeren van alleen de kweek of de kweek met directe kleuringen resulteren in 1,0 procent fout-negatieve uitslagen. Uiteraard biedt het uitvoeren van kweek en PCR samen de optimale diagnostische opbrengst waarbij het uitvoeren van directe microscopische kleuringen geen verdere meeropbrengst met zich meebrengt.

PCR als eerste keuze diagnostiek MTBC

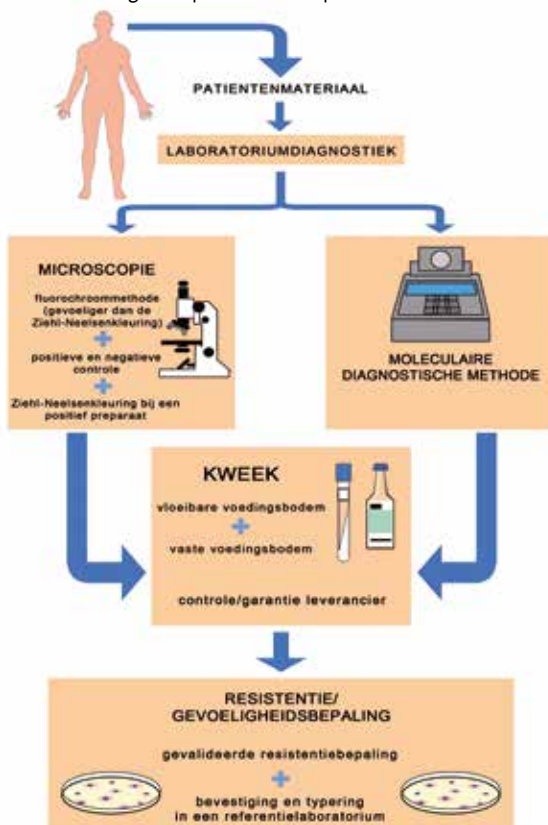
Zowel op basis van de eerder genoemde internationale studies, als op basis van de Nederlandse multicenterstudie kan de PCR als eerste keuze bij diagnostiek van MTBC worden overwogen. Allereerst dient er onderscheid te worden gemaakt tussen diagnostiek bij immuungecompromitteerde versus niet-immuungecompromitteerde patiënten (figuur 1). Bij de eerste categorie gaat het meestal niet alleen om MTBC maar ook om het aantonen van atypische mycobacteriën. In het geval van immuungecompromitteerde patiënten zal dus altijd kweek samen met auramine-/ZN-kleuring moeten blijven gehandhaafd. PCR is hier een additionele optionele keuze op basis van de beschikbaarheid van diverse atypische targetsequenties die beschikbaar zijn. Daarnaast geldt voor de PCR, net zoals voor de kweek en kleuring, dat afname van drie onafhankelijke patiënt-materialen optimaal is. Dit staat los van de gebruikte detectietechniek maar hangt samen met de kans op aanwezigheid van mycobacteriën in een van de materialen. De totale incidentie in Nederland van tuberculose is zeer laag (5,1 gevallen per 100.000 inwoners).²¹ Dit betekent in de praktijk dat, zeker bij niet-immuungecompromitteerde patiënten, diagnostiek naar mycobacteriën in verreweg de meeste gevallen wordt uitgevoerd ter uitsluiting van een infectie. Daarbij komt dat de verdenking van MTBC vaak ontstaat door de symptomen of anamnese. Uitgaande van deze situatie is een test met een hoge negatieve voorspellende waarde (NPV) van groot belang. In de beschreven Nederlandse studie is de NPV van de PCR bij deze groep patiënten 99 procent. Daarbij komt dat tijdswinst en risicospreiding toegevoegde klinische, financiële en

Figuur 1. Flow voor detectie van tuberculose voor immuun-gecompromitteerde en niet-immuun-gecompromitteerde patiënten. Dit figuur is gebaseerd op een bestaand figuur gepubliceerd bij Vlaspolder et al.²⁴

A: immuun-gecompromitteerde patiënten



B: niet-immuun-gecompromitteerde patiënten



logistieke voordelen hebben. Door snel een mycobacteriële infectie uit te sluiten, wordt onterechte verpleging in isolatie en het onterecht starten van een behandeling met tuberculostatica voorkomen. Daarnaast is het niet ongebruikelijk dat van hetzelfde klinische materiaal dat door het laboratorium wordt geanalyseerd ook andere verwekkers worden onderzocht. Aangezien MTBC een BSL₃-laboratorium vereist, is het van groot belang voor de laboratoriummedewerkers dat het snel duidelijk is dat er geen MTBC is aangetoond en er voor kweek van andere verwekkers zonder risico in het routinelaboratorium kan worden gewerkt.

Snelheid in de diagnose van MTBC is het hoogst met de directe microscopische kleuring. Deze heeft weliswaar een lagere sensitiviteit dan kweek en PCR maar is wel van cruciaal belang voor het instellen van isolatiemaatregelen en selecteert ook meteen voor infecties met hogere aantallen MTBC-bacteriën in het aangeboden materiaal. Wanneer de PCR tegelijkertijd met de kleuring wordt ingezet kan ook binnen een afzienbare tijd een hoge sensitiviteit worden gehaald. Wanneer beide negatief zijn is de kans op een MTBC-infectie vrijwel nihil en is de toegevoegde waarde van kweek in de Nederlandse situatie gering. Dit in combinatie met de lage incidentie leidt tot een sterke reductie in het aantal (negatieve, langdurige) kweken, een meer adequate patiëntenzorg (snelle uitsluiting MTBC-infectie) en meer veiligheid voor laboratoriummedewerkers die hetzelfde materiaal ook op andere verwekkers onderzoeken.

Daarom lijkt de tijd rijp voor een heroverweging van de routinediagnostiek voor het aantonen van een *Mycobacterium tuberculosis*-infectie bij niet-immuun-gecompromitteerde patiënten in Nederland (figuur 1B). Volgens de huidige richtlijn dient er altijd een kweek en microscopische kleuring te worden ingezet en is de

In het bijgaande voorstel voor een diagnostische flow hebben we de mogelijkheid om met PCR ook antibioticumresistentie van MTBC te onderzoeken, buiten beschouwing gelaten. Veel inhouse testen bevatten deze mogelijkheid nog niet, maar met de commerciële Xpert MTB/RIF-test zijn er, weliswaar in groepen met een hoge resistentieprevalentie, goede resultaten behaald bij de detectie van rifampicineresistentie, met een beschreven sensitiviteit van 97 tot 100 procent en specificiteit van 95 tot 100 procent.^{8,18} Siddiqi et al. bereikten mede dankzij de hoge snelheid van de Xpert-test een tijdsbesparing van 8 dagen wanneer de PCR, in plaats van de Bactec MGIT 960-test, werd toegepast voor directe resistentiebepaling op het patiëntenmateriaal.²² In tegenstelling tot de directe resistentiebepaling kan de Xpert MTB/RIF-test niet worden gebruikt voor het vervolgen van behandeling, gezien de mogelijkheid van detectie van DNA van dode cellen. Een multicenteronderzoek op dit gebied liet een specificiteit van minder dan 50 procent zien.²³

PCR een additionele optie. Op basis van de winst die kan worden behaald zou een heroverweging om PCR en kleuring als eerste diagnostische keuzes in te stellen de voorkeur hebben. Zodra de PCR en/of de kleuring positief zijn, wordt alsnog de kweek ingezet. Het eventuele tijdverlies dat hiermee gepaard gaat is gering (zeker gezien de tijdsduur van de kweek) en de kwaliteit van het materiaal zal hierdoor niet of nauwelijks negatief worden beïnvloed. Omdat bij positiviteit van PCR/kleuring de kweek wordt ingezet kan deze tevens worden gebruikt voor resistentiebepaling.

Kort samengevat is er naar onze opvatting voldoende bewijs voorhanden om moleculaire diagnostiek als eerste keuze voor de diagnostiek van MTBC bij niet-immuun-gecompromitteerde patiënten in te zetten. De diagnostiek van MTBC blijft daarmee voldoende gewaarborgd en de genoemde voordelen van deze aanpak lijken de patiëntenzorg ten goede te komen

Dankbetuigingen

Graag willen we alle ziekenhuizen en laboratoria bedanken die tussen 2004 en 2006 hebben deelgenomen aan de Nederlandse evaluatie van een IS6110 inhouse PCR, en met name Ing. J.L. de Beer en Dr. A.G.M. van der Zanden, destijds werkzaam in het Gelre Ziekenhuis te Apeldoorn, Ing. L.A.B. Oostendorp en Dr. J. Schirm, (destijds) werkzaam in Laboratorium voor infectieziekten te Groningen (momenteel bekend als Certe, Laboratorium voor Infectieziekten), Ing. S. Mulder en Dr. G.T. Noordhoek, (destijds) werkzaam in het Streeklaboratorium Friesland te Leeuwarden (momenteel bekend als Izore), Ing. P. Wiesenekker, werkzaam in het VU medisch centrum te Amsterdam, Dr. M.H.A. Hermans, werkzaam in het Jeroen Bosch Ziekenhuis te Den Bosch en Ing. H. Wilke en Dr. B. Mulder, werkzaam in het Streeklaboratorium voor Microbiologie in Twente en de Gelderse Achterhoek te Hengelo.

Ten slotte bedanken we Mayk Lucchesi voor grafische ondersteuning.

Referenties

- van Cleeff M, Kivihya-Ndugga L, Githui W, Ng'ang'a L, Kibuga D, Odhiambo J, et al. Cost-effectiveness of polymerase chain reaction versus Ziehl-Neelsen smear microscopy for diagnosis of tuberculosis in Kenya. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2005;9:877-83.
- Savelkoul PH, Catsburg A, Mulder S, Oostendorp L, Schirm J, Wilke H, et al. Detection of Mycobacterium tuberculosis complex with Real Time PCR: comparison of different primer-probe sets based on the IS6110 element. *J Microbiol Methods.* 2006;66:177-80.
- NVMM richtlijn Mycobacteriële laboratoriumdiagnostiek. 2006 <http://www.nvmm.nl/system/files/090717-NVMM%20RICHTLIJN-TUBERCULOSE-NOV-06.pdf>
- Tortoli E, Mandler F, Tronci M, Penati V, Sbaraglia G, Costa D, et al. Multicenter evaluation of mycobacteria growth indicator tube (MGIT) compared with the BACTEC radiometric method, BBL biphasic growth medium and Lowenstein-Jensen medium. *Clin Microbiol Infect.* 1997;3:468-73.
- Piersimoni C, Callegaro A, Scarparo C, Penati V, Nista D, Bornigia S, et al. Comparative evaluation of the new gen-probe Mycobacterium tuberculosis amplified direct test and the semiautomated abbot LCx

- Mycobacterium tuberculosis assay for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex in respiratory and extrapulmonary specimens. *J Clin Microbiol.* 1998;36:3601-4.
- Eing BR, Becker A, Sohns A, Ringelmann R. Comparison of Roche Cobas AmpliCor Mycobacterium tuberculosis assay with in-house PCR and culture for detection of M. tuberculosis. *J Clin Microbiol.* 1998;36:2023-9.
 - Automated Real-time Nucleic Acid Amplification Technology for Rapid and Simultaneous Detection of Tuberculosis and Rifampicin Resistance: Xpert MTB/RIF System Policy Statement. 2011; http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501545_eng.pdf?ua=1.
 - Steingart KR, Sohn H, Schiller I, Kloda LA, Boehme CC, Pai M, et al. Xpert(R) MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;1:CD009593.
 - Tebruegge M, Ritz N, Koetz K, Noguera-Julian A, Seddon JA, Welch SB, et al. Availability and use of molecular microbiological and immunological tests for the diagnosis of tuberculosis in europe. *PLoS One.* 2014;9:e99129.
 - Armand S, Vanhuls P, Delcroix G, Courcol R, Lemaitre N. Comparison of the Xpert MTB/RIF test with an IS6110-TaqMan real-time PCR assay for direct detection of Mycobacterium tuberculosis in respiratory and nonrespiratory specimens. *J Clin Microbiol.* 2011;49:1772-6.
 - de Beer JL, Oostendorp L, Mulder S, Wiesenekker P, Wilke H, van der Zanden AG, et al. Comparison of culture and real-time PCR for the detection of Mycobacterium tuberculosis complex in clinical samples, in NVMM spring meeting 2007: Papendal.
 - Choi HW, Miele K, Dowdy D, Shah M. Cost-effectiveness of Xpert(R) MTB/RIF for diagnosing pulmonary tuberculosis in the United States. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2013;17:1328-35.
 - Munoz L, Moure R, Porta N, Gonzalez L, Guerra R, Alcaide F, et al. GeneXpert(R) for smear-negative pulmonary tuberculosis: does it play a role in low-burden countries? *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013;75:325-6.
 - Lippincott CK, Miller MB, Popowitch EB, Hanrahan CF, Van Rie A. Xpert MTB/RIF assay shortens airborne isolation for hospitalized patients with presumptive tuberculosis in the United States. *Clin Infect Dis.* 2014;59:186-92.
 - Davis JL, Kawamura LM, Chaisson LH, Grinsdale J, Benhammou J, Ho C, et al. Impact of GeneXpert MTB/RIF on patients and tuberculosis programs in a low-burden setting: a hypothetical trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;189:1551-9.
 - Millman AJ, Dowdy DW, Miller CR, Brownell R, Metcalfe JZ, Cattamanchi A, et al. Rapid molecular testing for TB to guide respiratory isolation in the U.S.: a cost-benefit analysis. *PLoS One.* 2013;8:e79669.
 - Preventie van besmetting met tuberculose in ziekenhuizen. 2004 (revisie 2009); http://www.rivm.nl/dsresource?objectid=rivmp:231304&type=org&disposition=inline&ns_nc=1
 - Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, Shenai S, Krapp F, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *N Engl J Med.* 2010;363:1005-15.
 - Patel VB, Theron G, Lenders L, Matinyena B, Connolly C, Singh R, et al. Diagnostic accuracy of quantitative PCR (Xpert MTB/RIF) for tuberculous meningitis in a high burden setting: a prospective study. *PLoS Med.* 2013;10:e1001536.
 - Park KS, Kim JY, Lee JW, Hwang YY, Jeon K, Koh WJ, et al. Comparison of the Xpert MTB/RIF and Cobas TaqMan MTB assays for detection of Mycobacterium tuberculosis in respiratory specimens. *J Clin Microbiol.* 2013;51:3225-7.
 - Tuberculose Kernpunten 2013. 2014 update juli 2014; http://www.rivm.nl/dsresource?objectid=rivmp:256106&type=org&disposition=inline&ns_nc=1
 - Siddiqi S, Ahmed A, Asif S, Behera D, Javaid M, Jani J, et al. Direct drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis for rapid detection of multidrug resistance using the Bactec MGIT 960 system: a multicenter study. *J Clin Microbiol.* 2012;50:435-40.
 - Friedrich SO, Rachow A, Saathoff E, Singh K, Mangu CD, Dawson R, et al. Assessment of the sensitivity and specificity of Xpert MTB/RIF assay as an early sputum biomarker of response to tuberculosis treatment. *Lancet Respir Med.* 2013;1:462-70.
 - Vlasplolder F, van Gageldonk-Lafeber RAB, Kuijper E, van der Zanden AG, van Soelingen D. Laboratoriumdiagnostiek van tuberculose in Nederland; inventarisatie van de situatie in 2001 getoetst aan de richtlijn Mycobacteriële laboratoriumdiagnostiek. *Infectieziekten Bulletin.* 2007;18:45-54.

Artesunaat; eerste keus voor parenterale behandeling van malaria

P.A. Kager, P.J. de Vries

Trefwoorden

Malaria, malariabehandeling

Inleiding

Voor parenterale behandeling van malaria zijn in Nederland kinine en artesunaat beschikbaar. Beide middelen kunnen intramusculair (im) en intraveneus (iv) worden toegediend. Parenterale behandeling van malaria komt in aanmerking bij patiënten die braken, niet (kunnen) slikken en bij patiënten met ernstige, gecompliceerde malaria. Ernstige malaria wordt meestal veroorzaakt door *Plasmodium falciparum* maar komt ook voor bij infectie met *P. vivax* en *P. knowlesi*. Bij ernstige *P. falciparum*-infecties is artesunaat bewezen effectiever dan kinine.¹ Nederland was een van de eerste geïndustrialiseerde landen waar iv-artesunaat beschikbaar kwam en dit is het middel van eerste keus in de behandeling van ernstige malaria.² Artesunaat wordt ook door de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO), in de Verenigde Staten³, Groot Brittannië⁴ en door het Europese Netwerk voor Reizigersgeneeskunde, TropNet⁵ aanbevolen voor de behandeling van ernstige malaria.

Malaria

Malaria wordt veroorzaakt door *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* en *P. knowlesi*. Ernstige vormen van malaria met shock, coma, ernstige anemie, ernstige verstoring van orgaanfuncties, stollingsstoornissen, al dan niet in combinatie, treden vooral op bij *P. falciparum*-infecties maar ook bij infecties met *P. vivax* en *P. knowlesi*. Bij laatstgenoemde infecties is artesunaat effectief, maar de effectiviteit is niet vergeleken met kinine.

Behandeling van ernstige malaria

In twee grote, internationale, multicentrische, gerandomiseerde onderzoeken waarin kinine en artesunaat werden vergeleken bij de behandeling van volwassenen en kinderen met ernstige malaria bleek artesunaat sterfte te reduceren. Een Cochrane-analyse waarin naast deze twee onderzoeken zes kleinere trials werden geïncludeerd, toonde reductie van sterfte voor volwassenen (n = 1664)

(RR 0,61, 95% CI 0,50 tot 0,75) en kinderen (n = 5765) (RR 0,71, 95% CI 0,65 tot 0,90). De auteurs concludeerden dat artesunaat het middel van keuze moet zijn voor alle patiënten met ernstige malaria, overal ter wereld.¹

Artesunaat

Artesunaat is het hemisuccinaat van dihydroartemisinine, de belangrijkste werkzame metaboliet van artemisinine. Artesunaat is instabiel in oplossing en wordt geleverd in ampullen met 60 mg poeder. Dit wordt vlak voor toediening opgelost in 1 ml 5%-natriumbicarbonaat en deze oplossing wordt gemengd met 5 ml 5%-glucose of 0,9% NaCl-oplossing en vervolgens langzaam als bolus toegediend.

Dosering

De dosering bedraagt 2,4 mg artesunaat per kg, na 0, 12 en 24 uur en daarna elke 24 uur tot maximaal zeven dagen. Wanneer de patiënt kan eten en drinken wordt aanbevolen artesunaat te staken en de behandeling voort te zetten met een volledige kuur van een oraal middel, in Nederland atovaquon/proguanil, artemether/lumefantrine of artemimol (= dihydroartemisinine)/piperaquine. Laatstgenoemd combinatiepreparaat is opgenomen in het Farmacotherapeutisch Kompas maar nog niet beoordeeld en wordt nog niet vergoed.

Artemisininederivaten zijn de snelst werkzame en krachtigste antimalariamiddelen waarover we beschikken. Sinds enkele jaren is ook tegen deze middelen resistentie bekend, vooralsnog beperkt tot de Mekong-regio.^{6,7} Artemisinineresistentie is geassocieerd met K13-propellermutaties⁸ en wordt onder meer gekenmerkt door een tragere klaring van parasieten waardoor die na drie dagen behandelen nog steeds in het bloed aantoonbaar zijn.^{6,7}

Dr. P.J. de Vries, internist-infectioloog, afdeling Interne Geneeskunde, Tergooi, Hilversum.
Correspondentieadres: em. prof. dr. P.A. Kager, internist, Eenheid voor Tropische Geneeskunde en Reizigersgeneeskunde, afdeling Infectieziekten, Divisie Inwendige Geneeskunde, Academisch Medisch Centrum, Amsterdam, e-mail: p.a.kager@amc.uva.nl.

In Westerse landen en Japan is sinds 2010 bij een aantal reizigers met ernstige malaria na behandeling met iv-artesunaat een late hemolytische reactie waargenomen, één tot vier weken na start van de therapie.⁹ Deze reactie werd vooral gezien bij patiënten met een hoge parasitemie, maar niet bij al deze patiënten. Een afdoende verklaring ontbreekt vooralsnog; de hemolyse lijkt niet dosisafhankelijk.¹⁰ Mogelijk speelt 'pitting' een rol. Dit is het proces waarbij parasieten tijdens miltpassage worden verwijderd uit de erythrocyten.¹¹ Deze erythrocyten hebben een kortere levensduur. 'Pitting' is vastgesteld na behandeling met artemisininepreparaten, niet na kinine. De hemolyse behoeft soms transfusie maar stopt binnen enkele weken en reageert waarschijnlijk niet op toediening van corticosteroiden. Geadviseerd wordt patiënten die behandeld zijn met artesunaat wekelijks, tot vier weken na behandeling te controleren (onderzoek naar parasieten en Hb).¹⁰ In genoemde gerandomiseerde onderzoeken¹ werd deze hemolyse niet opgemerkt, voornamelijk doordat de observatieduur te kort was. Behandeling met artesunaat gaat gepaard met weinig andere bijwerkingen en controle hiervoor is niet nodig.

Beschikbaarheid

Het in Nederland beschikbare artesunaat heeft een pre-kwalificatiestatus gekregen van de WHO en wordt na import onderzocht op kwaliteit door de importeur. Artesunaat kan op artsenverklaring worden voorgeschreven met speciale toestemming van de Inspectie voor de Volksgezondheid.

Kinine

Kinine is effectief, zeker in combinatie met doxycycline of clindamycine, maar werkt minder snel en heeft meer bijwerkingen dan artesunaat. Kinine heeft een smalle therapeutische breedte: verkeerde dosering of toedieningsnelheid zijn gevaarlijk. Geadviseerd wordt kinine toe te dienen met behulp van een infuus pomp. Hypotensie, ritmestoornissen en hypoglykemie zijn de belangrijke complicaties.

Dosering

De eerste dosis (oplaaddosis) is 20 mg (zout)/kg iv in 4 uur, daarna 30 mg/kg per 24 uur, maximaal zeven dagen. Aanbevolen wordt de toediening van kinine te staken zo gauw de patiënt kan eten en drinken en de behandeling voort te zetten met een volledige kuur met een oraal middel, zoals eerder beschreven.

Beschikbaarheid

Kinine is geregistreerd voor intraveneus gebruik. Het wordt magistraal bereid volgens het FNA en daarmee kan het worden voorgeschreven op normaal recept.

Zowel betreffende artesunaat als betreffende kinine dient de voorschrijver de patiënt te informeren en toestemming te verkrijgen volgens de WGBO.

Beraad van Europese malaria-experts over voor- en nadelen van het vervangen van kinine door artesunaat resulteerde in het advies als eerste keuze artesunaat voor te schrijven en wel op artsenverklaring en gekoppeld aan prospectief onderzoek van resultaten en bijwerkingen, vastlegging en rapportage hiervan.¹²

Zwangerschap

Bij proefdieren zijn bij toediening van suprathérapeutische doseringen van artemisininepreparaten tijdens zwangerschap foetale resorptie en teratogeniteit vastgesteld. Bij de mens zijn deze tot nu toe niet geconstateerd. Gebruik tijdens het tweede en derde trimester van de zwangerschap verliep zonder complicaties. Toediening tijdens het eerste trimester wordt niet aangeraden behoudens bij ernstige malaria, wanneer de voordelen van snelle en effectieve behandeling opwegen tegen de risico's.¹³ Kinine kan gedurende de gehele zwangerschap worden toegediend.

Additionele maatregelen

Wegens anemie en hypoglykemie zijn bloedtransfusie en infusie van glucoseoplossingen vaak nodig. Het nut van wisseltransfusie is niet bewezen; bij behandeling met artesunaat is voor wisseltransfusie geen plaats.¹⁴ Vele additionele middelen zijn geprobeerd, geen met bewezen nut en sommige bleken schadelijk (corticosteroiden, heparine). Complicerende bacteriële infecties komen voor en daarom wordt aanbevolen bloedkweken af te nemen en bij ernstig zieke patiënten breed spectrum antibiotica met dekking tegen gramnegatieve bacteriën toe te dienen in afwachting van resultaten van microbiologisch onderzoek.

Conclusie

Iv-artesunaat is het middel van keuze voor de behandeling van ernstige malaria, ook voor parenterale behandeling van malaria om andere redenen (onder andere misselijkheid, braken). Elk ziekenhuis in Nederland zou voldoende artesunaat in huis moeten hebben voor initiële behandeling van een volwassen patiënt en voor overbrugging van de tijd tot opname in een gespecialiseerd centrum. In de praktijk betekent dit een voorraad van 10 à 12 ampullen van 60 mg.

Belangenconflict

P.J. de Vries is medisch-wetenschappelijk adviseur voor ACE Pharmaceuticals. P.A. Kager adviseerde ACE.

Referenties

1. Sinclair D, Donegan S, Isba R, Lalloo DG. Artesunate versus quinine for treating severe malaria. Cochrane Database of Systematic reviews 2012, Issue 6. Art. No. CD005976. DOI: 10.1002/14651858.CD005976.pub4.

2. Nationale AntibioticaBoekje. Stichting Werkgroep Antibiotica Beleid; <http://swabid.nl/>.
3. CDC: Treatment of malaria (Guidelines for clinicians). 2011, <http://www.cdc.gov/malaria/resources/pdf/clinicalguidance.pdf>.
4. Lalloo DG, Somgadoo D, Pasvol G, Chiodini PL, Whitty CJ, Beeching NJ, et al. UK malaria treatment guidelines. *J Infect.* 2007;54:111-21.
5. <http://www.tropnet.net/index.php?id=123>.
6. Dondorp AM, Nosten F, Yi P, Das D, Phyto AP, Tarning J, et al. Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *N Engl J Med.* 2009;361:455-67.
7. Global Malaria Programme WHO. Status report on artemisinin resistance [Internet]. 2014 Jan. Report No.: WHO/HTM/GMP/2014.2. Available from: https://czcxzr4zkpd-go.amc-literatuur.amc.nl/malaria/publications/atoz/status_rep_artemisinin_resistance_jan2014.pdf.
8. Ariey F, Witkowski B, Amaratunga C, Beghain J, Langlois A-C, Khim N, et al. A molecular marker of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature.* 2014;505:50-5.
9. CDC. Published reports of delayed haemolytic anemia after treatment with artesunate for severe malaria – worldwide, 2010-2012. *MMWR;* 2013/62(01):5-8.
10. Kreeftmeijer-Vegter AR, Genderen PJ van, Visser LG, Bierman WFW, Clerinx J, Veldhuizen CKW van, et al. Treatment outcome of intravenous artesunate in patients with severe malaria in the Netherlands and Belgium. *Malar J.* 2012;11:102-12.
11. Buffet PA, Safeukui I, Deplaine G, Brousse V, Prendki V, Thellier M, et al. The pathogenesis of *Plasmodium falciparum* malaria in humans: insights from splenic physiology. *Blood.* 2011;117:381-92.
12. Cramer JP, López-Vélez R, Burghard GD, Grobusch MP, de Vries PJ. Treatment of imported severe malaria with artesunate instead of quinine – more evidence needed? *Malar J.* 2011;10:256.
13. Ades V. Safety, pharmacokinetics and efficacy of artemisinins in pregnancy. *Infectious Disease Reports.* 2011;3:e8.
14. Kreeftmeijer-Vegter AR, Melo M de M, de Vries PJ, Koelewijn R, van Hellemond JJ, van Genderen PJ. Manual blood exchange transfusion does not significantly contribute to parasite clearance in artesunate-treated individuals with imported severe *Plasmodium falciparum* malaria. *Malar J.* 2013;12:115.

Op het verkeerde been door een tuberculosekweek: een leerzame casus uit de praktijk

L.E.M. Haas, A.J. Stam, M. Taris, A.W.J. Bossink, J.W. Fijen, W.C.M. de Lange

Samenvatting

Een 55-jarige man afkomstig uit Bosnië werd via de afdeling Spoedeisende Hulp opgenomen op de intensive care vanwege respiratoire insufficiëntie veroorzaakt door een lageluchtweginfectie door een goedgevoelige *Mycobacterium tuberculosis*.

Het IC-beloop was geprotraheerd en gecompliceerd. Ondanks langdurige behandeling met tuberculostatika (isoniazide, ethambutol, pyrazinamide, rifampicine en moxifloxacine), bleef het sputum positief voor zuurvaste staven en werd ook bij herhaling groei van *M.tuberculosis* in de MycobacteriaGrowth Indicator Tube (MGIT) gedetecteerd. Als oorzaak hiervoor werd differentiaal diagnostisch onder andere gedacht aan: subtherapeutische medicatiespiegels, onvoldoende perfusie in aangedane longdelen (cavernen en bronchiectasieën), een onderliggende immuunstoornis of resistentieontwikkeling. Het bleek echter te gaan om foutpositieve MGIT-uitslagen. Door de langdurige aanwezigheid van zuurvaste staven was het mogelijk dat de MGIT foutpositief kon worden geconfirmeerd, een fenomeen dat, voor zover ons bekend, nog niet eerder is beschreven.

Abstract

A 55-year old man from Bosnia, was admitted to our ICU because of respiratory insufficiency. A *Mycobacterium tuberculosis* infection was diagnosed for which he was treated with antituberculosis agents (isoniazid, rifampicin, pyrazinamide, ethambutol, and moxifloxacin).

The ICU course was protracted and complicated. Despite long lasting treatment according to guidelines, both acid fast staining (AFS) on bronchial material and Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) results persisted to be positive. Differential diagnosis for this included subtherapeutic medication levels as a consequence of fast metabolism and/or insufficient resorption, insufficient perfusion of the affected lung regions, an underlying immune insufficiency or development of resistance. Eventually, it appeared that the MGIT results were false-positive. Due to the long-lasting presence of acid-fast rods it was possible that the MGIT could falsely be confirmed positive. A phenomenon that is, by our knowledge, not previously described.

Trefwoorden

M. tuberculosis, MGIT

Casus

Een 55-jarige man, afkomstig uit Bosnië, meldde zich op de afdeling Spoedeisende Hulp (SEH) van het Diaconessenhuis in Utrecht omdat hij al enkele weken last had van progressieve dyspneu. De patiënt had een blanco voorgeschiedenis. Naast progressieve dyspneu was er een productieve hoest, gewichtsverlies (21 kilo in 2 maanden) en alcohol- en nicotine-abusus. Er was geen hemoptoë. De patiënt was al door een huisarts behandeld met een kuur amoxicilline. Bij lichamelijk onderzoek werd een zieke, bleke man gezien met een bloeddruk van 94/70 mm Hg, pols 130 slagen per minuut, ademhalingsfrequentie van 26 per minuut en perifere zuurstofsaturatie van 84 procent met 5 liter extra zuurstof via een neusbril en een (otogeen gemeten) temperatuur van 38,7°. Bij auscultatie van de longen werd bronchiaal ademgeruis en crepiteren gehoord. Oriënterend laboratoriumonderzoek toonde onder meer: CRP 177 mg/L (<10 mg/L), bezinking meer dan 95 mm/uur (1-7 mm/uur), hemoglobine 7,8 mmol/L (8,0-10,2 mmol/L), leukocyten $4,5 \times 10^9/L$ ($4,0-10,0 \times 10^9/L$) met 65 procent staafkernigen en toxische korreling, lactaat 3,5 mmol/L (0,5-2,2 mmol/L) en normale nier- en leverfunctie en elektrolyten. Een thoraxfoto toonde zeer uitgebreide infiltratieve afwijkingen in beide bovenvelden en rechtsonder (figuur 1a).

De patiënt werd opgenomen op de intensive care (IC) en na orotracheale intubatie werd gestart met invasieve mechanische beademing.

Een auraminekleuring liet in het sputum zeer veel (4+) zuurvaste staven zien. De schaalverdeling bij auramine-

L.E.M. Haas, J.W. Fijen, afdeling Intensive Care, Diaconessenhuis Utrecht, A.J. Stam, afdeling Medische Microbiologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht, M. Taris, afdeling Medische Microbiologie, Sint Antonius Ziekenhuis Nieuwegein, A.W.J. Bossink, afdeling Longziekte en Tuberculose, Diaconessenhuis Utrecht, W.C.M. de Lange, afdeling Longgeneeskunde en Tuberculose, Tuberculosecentrum Beatrixoord, Universitair Medisch Centrum Groningen.
Correspondentieadres: L.E.M. Haas, afdeling Intensive Care, Diaconessenhuis Utrecht, e-mail: lvlelyveld@diakhuis.nl.

kleuringen is afgeleid van de bij ZN-kleuring gebruikte Bronkhorst-classificatie.^{1,2}

Met behulp van de gebruikte polymerasekettingreactie (PCR), konden deze staven worden geïdentificeerd als behorende tot het *Mycobacterium tuberculosis*-complex.³ Binnen dit complex vallen verschillende subspecies (*M. tuberculosis*, maar ook *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. caprae*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canettii*, *M. pinnipedii* en *M. mungi*).⁴ Door het RIVM werd deze vervolgens, door middel van een 'reversed line blot method' (GenoType[®]MTBC, Hain Life Science GmbH, Duitsland), gedetermineerd als de subspecies *M. tuberculosis*. De gevonden *M. tuberculosis*-stam had geen mutaties in de hotspotregio's van het inhA/katG-gen en het rpoB-gen (GenoType[®]MTBDRplus, Hain Life Science GmbH, Duitsland), welke een hoge negatief voorspellende waarde hebben voor respectievelijk isoniazide (INH)- en rifampicine (RMP)resistentie.⁵ De fenotypische antimicrobiële gevoeligheidsbepaling toonde geen resistentie aan tegen ciprofloxacine, rifampicine, amikacine, streptomycine, isoniazide, pyrazinamide, ethambutol, prothionamide en rifabutine. Het resultaat van serologisch onderzoek naar hiv was negatief.

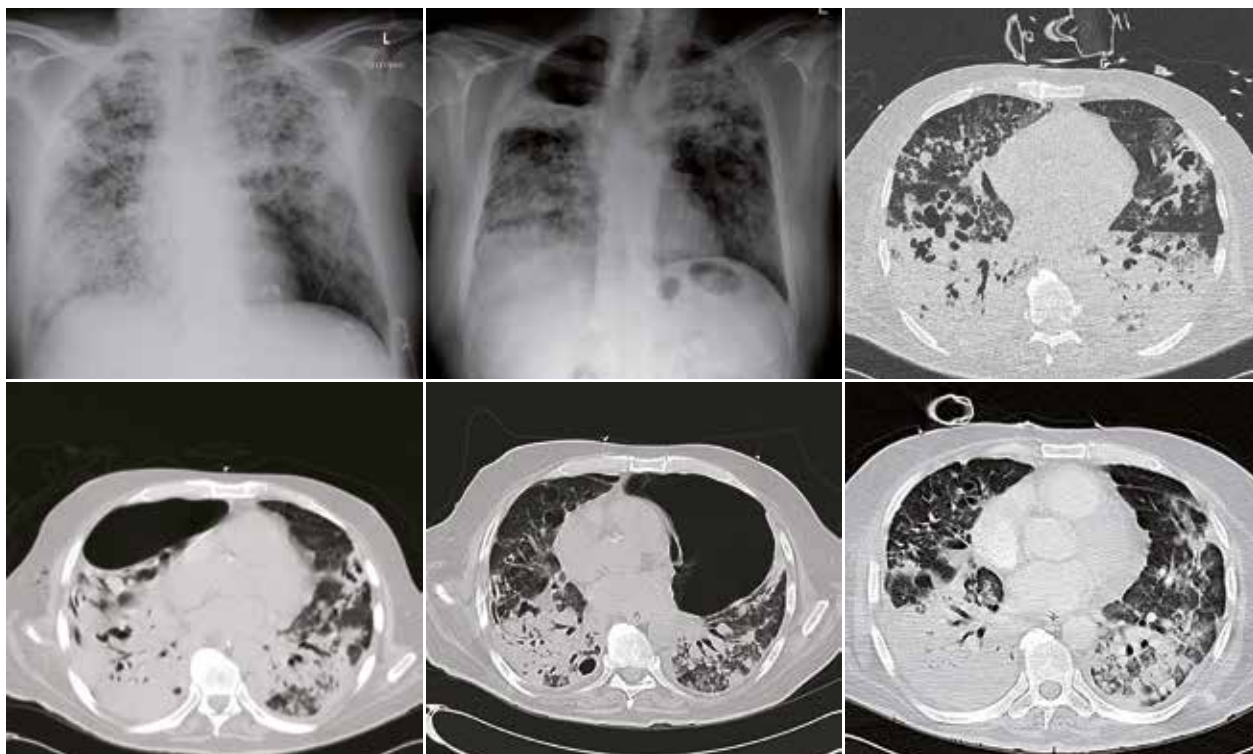
De patiënt werd behandeld met de combinatie INH (1 dd 300 mg), RMP (1 dd 600 mg), ethambutol (EMB) (1 dd 1600 mg), pyrazinamide (PZA) (1 dd 2000 mg) en later ook moxifloxacine (1 dd 400 mg). Vanwege de

gedetecteerde zuurvaste staven in sputum, hoestklachten en caverneuze afwijkingen bij beeldvorming werd de patiënt in aëroge isolatie geplaatst. Er was sprake van zeer ernstige destructie van het longparenchym met naast cavernen en bronchiectasieën ook consolidaties en er trad tijdens het beloop recidiverend een pneumothorax beiderzijds op, waarvoor meermaals drainage werd uitgevoerd (figuur 1). De patiënt werd langdurig invasief beademd en onderging een percutane tracheotomie. In totaal werd hij 134 dagen (in 3 episoden) invasief beademd. Het afbouwen van de beademing verliep moeizaam, onder meer tengevolge van zijn critical illness polyneuromyopathie (CIPNM) en aspiratie als gevolg van slikstoornissen.

Het klinisch beeld verbeterde langzaam ondanks de langdurige behandeling en derhalve werd de effectiviteit van de tuberculosebehandeling geëvalueerd door met regelmaat een kleuring op zuurvaste staven te verrichten en een tuberculosekweek in te zetten.

Op dag 97 (sputum) en 142 (bronchiaal secreet) werd groei in de MycobacteriaGrowth Indicator Tube (MGIT) (BACTEC[™] MGIT[™] 960 Mycobacterial Detection System, Becton Dickinson, USA) gedetecteerd waarbij de identificatie door middel van PCR op de MGIT-buis *M. tuberculosis* als resultaat gaf. De ingestelde behandeling leek op dat moment niet effectief. Differentiaal diagnostisch werd als oorzaak hiervoor onder andere gedacht aan: subthe-

Figuur 1. Medische beeldvorming: Thoraxfoto bij opname (dag 1) en ruim een jaar later (dag 390) en CT-thoraxbeelden van resp. c) dag 11; d) dag 54; e) dag 88; f) dag 159.



rapeutische medicatiespiegels door bijvoorbeeld snelle metabolisatie en/of onvoldoende resorptie, onvoldoende perfusie in aangedane longdelen (cavernen), een onderliggende immuunstoornis of resistentieontwikkeling. Er werd besloten hierop verdere diagnostiek in te zetten.

Er werden medicatiespiegels bepaald. Hierbij bleek dat het moeizaam was om een uitspraak te doen op basis van deze spiegels, ondanks een secuur vijfpunts-afname-schema. De interpretatie werd mede gecompliceerd door het groot aantal medicamenten en de lastige timing van de spiegelbepaling. De gemeten spiegels waren bij herhaling te laag. Als mogelijke oorzaken hiervoor werd onder andere gedacht aan onvoldoende resorptie van orale moxifloxacin, bijvoorbeeld door interactie met orale calcium (osteoporoseprofylaxe bij de langdurige behandeling met corticosteroiden) en/of magnesiumhydroxide (laxans) en aan snelle metabolisatie. Vanwege de bij herhaling gemeten subtherapeutische spiegels werd de dosering van de antituberculosemedicatie opgehoogd en deels ook intraveneus toegediend. De mogelijkheid van therapieontrouw werd verworpen gezien de geobserveerde medicatietoediening. Men besloot de tuberculostatika niet lokaal (intrapulmonaal) toe te dienen, bij gebrek aan wetenschappelijk onderbouwing hiervoor. Om te onderzoeken of door verminderde perfusie van de ernstig aangetaste long inadequate weefselspiegels van de tuberculostatika werden bereikt, werd een perfusiescan verricht, waarbij inderdaad sprake bleek van een lokaal sterk afgenomen circulatie van de linkerlong. Vanwege de zeer matige klinische conditie werd echter afgezien van een partiële longresectie.

Een onderliggende immuunstoornis kon niet worden aangetoond. Hiv-serologie was bij herhaling negatief. Er werd nader onderzoek verricht naar de specifieke cellulaire immuniteit door de natural killer (NK)-cellen en lymfocyten-subpopulatie te onderzoeken. Er werden normale aantallen NK-cellen gevonden, maar lage aantallen van zowel de B-lymfocyten als T-lymfocyten, passend bij een ernstige ziekte en niet bij een immuundeficiëntie. Een lymfocytenfunctietest gaf geen aanwijzingen voor een onderliggende immuundeficiëntie. De resistentie werd opnieuw genotypisch bepaald door middel van het verrichten van een cito INH/Rifa PCR door het RIVM op het materiaal van dag 107. Het bleek weer om een goedgevoelige stam te gaan. Het materiaal van dag 97 en dag 142, ruim na de aanvang van de tuberculostatika, werd positief in de MGIT, maar afenting van deze MGIT liet geen groei van mycobacteriën zien op een Löwenstein-Jensen (LJ)-medium. Vanaf het moment dat dit duidelijk werd, ontstond de gedachte dat dit signaal niet per se samenhangt met de aanwezigheid van levensvatbare tuberkelbacteriën.

Na een verblijf van ruim 200 dagen op de IC kon de patiënt worden overgeplaatst naar het Tuberculosecentrum Beatrixoord te Haren, onderdeel van het UMCG, voor

verdere behandeling en revalidatie. De patiënt is inmiddels, ruim een jaar na zijn initiële presentatie, uit het ziekenhuis ontslagen en maakt het relatief goed. Poliklinisch werden op dag 401 in het sputum overigens nog steeds zuurvaste staven gedetecteerd.

Beschouwing

Wij beschrijven hier een casus van een infectie met een goedgevoelige *M. tuberculosis* met een gecompliceerd klinisch beloop en de daarmee samenhangende onzekerheid met betrekking tot de effectiviteit van therapie.

Om de effectiviteit van therapie en de besmettelijkheid te kunnen evalueren werden op verschillende monsters auraminekleuringen, kweken en resistentiebepalingen verricht (tabel 1). Ondanks langdurige, adequate therapie konden steeds opnieuw zuurvaste staven in het sputum worden aangetoond. Een positieve kleuring voor zuurvaste staven bij patiënten na adequate therapie is een bekend fenomeen en hoeft geen teken te zijn van falende therapie. De patiëntenpopulatie waarbij dit het meest frequent wordt gezien, heeft bij initiële presentatie ook veel zuurvaste staven in het sputum en/of er zijn cavernen aanwezig, zoals ook bij deze casus het geval was.⁵⁻⁶ Doordat mycobacterieel DNA aanwezig kan zijn, kan in dergelijke gevallen ook de PCR op *M. tuberculosis* positief blijven op zowel het directe materiaal als op de MGIT buis na beënting.⁷⁻⁹ Opvallend is dat bij langdurige detectie van zuurvaste staven deze bij adequate therapie niet kweekbaar en dus niet levensvatbaar zijn.¹⁰ Bij het beoordelen van de effectiviteit van de therapie is het om deze reden belangrijk de kweken te beoordelen.

In deze casus werden kweken van sputum, bronchiaal secreet of BAL regelmatig ingezet om de effectiviteit van de behandeling te monitoren. Het ingestuurde materiaal werd volgens protocol gedecontamineerd met de BBL® Mycoprep™-vloeistof en vervolgens geneutraliseerd, geconcentreerd en in een MGIT geënt. De MGIT-apparatuur werkt volgens het principe van fluorescentie die door de aanwezigheid van zuurstof wordt gedempt. Door groei van micro-organismen wordt zuurstof uit de omgeving onttrokken met als gevolg dat de fluorescentie toeneemt. Dit wordt door een sensor in de bodem van de buis gedetecteerd en vervolgens wordt door een geautomatiseerd signaal aangegeven dat er groei in de MGIT plaatsvindt.

De positieve MGIT-uitslagen in onze patiënt werden bevestigd door de aanwezigheid van zuurvaste staven aan te tonen met behulp van een Ziehl-Neelsen (ZN-)kleuring. Op deze wijze kan contaminatie uitgesloten worden.¹¹ In het materiaal van dag 97 werd de MGIT na 7 dagen positief en werden er zuurvaste staven gevonden die door PCR werden geïdentificeerd als *M. tuberculosis*, een bevinding die veel onrust veroorzaakte bij zowel de behandelaars als de patiënt en zijn naasten.

Tabel 1. Overzicht relevante uitslagen microbiële diagnostiek.

| Dag | Materiaal | Auramine | PCR direct materiaal | MGIT | PCR aankweek | Kweek LJ & uitslagen RIVM |
|-----|--------------------|----------|----------------------|-----------------------|--------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| 2 | Sputum | 4+ | + | + na 7 dagen; ZN ++++ | | |
| 3 | Sputum | 4+ | | + na 3 dagen; ZN ++++ | | Löwenstein + RIVM: geen resistentie, geheel gevoelig |
| 5 | minilavage | 4+ | + | + na 6 dagen; ZN +/- | | |
| 12 | sputum | 4+ | | | | |
| 17 | pleuravocht | 1+ | + | - | | |
| 24 | liquor | 0 | - | - | | |
| 30 | bronchiaal secreet | 4+ | | + na 14 dagen; ZN ++ | | |
| 52 | bronchiaal secreet | 4+ | | | | |
| 76 | sputum | 0 | | Cont. na 2 dagen | | |
| 97 | sputum | 2+ | | + na 2 dagen; ZN +/- | + | Löwenstein – RIVM: verontreinigd |
| 101 | sputum | 2+ | | - | | |
| 102 | bronchiaal secreet | 1+ | | Cont. na 2 dagen | | |
| 107 | bronchiaal secreet | 3+ | | ** | + | RVIM: verontreinigd, DNA rifaS en inhS op het directe 'geNALCte' materiaal |
| 114 | bronchiaal secreet | 3+ | | Cont. na 2 dagen | | |
| 121 | sputum | 4+ | | - | | |
| 128 | bronchiaal secreet | 3+ | | - | | |
| 129 | beenmerg | 0 | - | - | | |
| 135 | Keel | 4+ | | - | | |
| 142 | bronchiaal secreet | 2+ | | + na 2 dagen; ZN +/- | + | Löwenstein – RIVM: verontreinigd.* |
| 149 | bronchiaal secreet | 2+ | | - | | |
| 163 | bronchiaal secreet | 3+ | + | - | | |
| 166 | bronchiaal secreet | 3+ | + | | | |
| 170 | sputum | 4+ | | - | | |
| 177 | sputum | 2+ | + | | | |
| 184 | bronchiaal secreet | 2+ | + | - | | |
| 198 | bronchiaal secreet | 3+ | + | - | | |
| 228 | sputum | 3+ | | | | |
| 234 | sputum | 3+ | | | | |
| 241 | sputum | 2+ | | | | |
| 248 | sputum | 1+ | | | | |
| 255 | sputum | 1+ | | | | |
| 284 | sputum | 1+ | | | | |
| 295 | sputum | 3+ | | | | |
| 304 | sputum | 2+ | | | | |
| 340 | sputum | 3+ | | | | |
| 345 | sputum | 1+ | | | | |
| 361 | sputum | 1+ | | | | |
| 365 | sputum | 1+ | | | | |
| 390 | sputum | 2+ | + | - | | |
| 397 | sputum | 2+ | + | - | | |
| 399 | sputum | 2+ | | - | | |

* Geen resistentiebepaling mogelijk. Geen delende Mycobacteriën aangetoond. Sporadisch ZN-positieve staafjes, aangenomen als afkomstig uit oorspronkelijk materiaal.

** Deze MGIT is na 6 weken negatief gemeld; wegens storing van het apparaat, werd van alle negatieve meldingen alsnog een ZN-kleuring verricht. De ZN van deze patiënt bleek alsnog sporadisch positief. Het resultaat is vervolgens als positief afgegeven, maar achteraf lijken dit dode staafjes te zijn geweest.

In afwezigheid van resistentie en in een gecontroleerde setting als de IC is het onwaarschijnlijk dat na 97 en 142 dagen therapie de MGIT na korte tijd positief wordt.^{5,6,10,12}

Er werd aan verschillende mogelijkheden gedacht die de aanwezigheid van levende mycobacteriën zouden kunnen verklaren, waaronder subtherapeutische medicatiespiegels, waarop de doseringen van de tuberculostatika werden opgehoogd. Om resistentie uit te sluiten werden aanvullende kweken van dit materiaal ingezet op LJ buizen, en werd MGIT medium opgestuurd naar het RIVM voor fenotypische resistentiebepaling. Deze kweken waren echter zowel op dag 97 als op dag 142 na verschillende pogingen negatief, waardoor werd gedacht aan een foutpositieve uitslag.

Een foutpositieve melding in de MGIT door groei van een ander micro-organisme dan mycobacteriën komt voor in ongeveer 17 procent van de kweken.¹³ Om deze reden moet ter confirmatie een ZN-kleuring worden verricht om een eventuele contaminatie aan te tonen.

Het is aannemelijk dat bij deze patiënt, die blijvend grote hoeveelheden zuurvaste staven bleef uitscheiden, er een risico bestaat dat tijdens de confirmatie van de positieve MGIT de dode, bij inoculatie van de MGIT buis opgebrachte, mycobacteriën werden gezien in een gecontamineerde kweek. De mycobacteriën waren met een zuurvaste kleuring en moleculaire technieken aantoonbaar, maar konden bij herhaling niet worden gekweekt. De conclusie is dat het signaal van de MGIT als foutpositief geïnterpreteerd had moeten worden.

Naast contaminatie door micro-organismen die de decontaminatie overleven kunnen ook andere oorzaken foutpositieve MGIT-uitslagen verklaren, hoewel de literatuur hierover beperkt is.¹⁴⁻¹⁵

De aanwezigheid van humane cellen in het inoculum kan de meting van de MGIT verstoren en foutpositiviteit veroorzaken. Beenmerg en bloederige pleuravochten worden bijvoorbeeld na enkele dagen vrijwel altijd positief gemeld door de MGIT.

Tenslotte lijkt er ook een relatie tussen temperatuur en foutpositiviteit. In het laboratorium is het eerder voorgekomen dat een lade 30 minuten buiten de MGIT heeft verkeer, hetgeen leidde tot meer dan 50 positief meldingen in de betreffende lade. De temperatuurschommeling lijkt hierbij een rol te hebben gespeeld (persoonlijke mededeling M. Taris).

Conclusie

Deze casus toont dat het monitoren van de effectiviteit van therapie bij een patiënt met vergevorderde tuberculose en een gecompliceerd beloop gepaard kan gaan met moeilijkheden. Het is bekend dat zuurvaste staven en *M. tuberculosis*-DNA langdurig detecteerbaar kunnen zijn hetgeen niet hoeft te wijzen op therapiefalen. Dat dit fenomeen ook de interpretatie van resultaten van de MGIT kan verstoren is, voor zover wij weten, nog niet eerder beschreven.

Door middel van deze casus willen we het risico op een foutpositieve confirmatie van de MGIT onder de aandacht brengen bij patiënten met vergevorderde tuberculose en een gecompliceerd beloop.

Kernboodschappen

- TB heeft een andere klinische en microbiologische dynamiek dan banale infecties. Dit kan in een IC-setting leiden tot onrust over effectiviteit van behandeling en besmettelijkheid.
- Klinische en laboratoriumtechnische kennis en ervaring met TB is van groot belang voor adequate diagnostiek en behandeling van TB.
- Foutpositieve MGIT-meldingen komen voor en kunnen verschillende oorzaken hebben. Een onbekende oorzaak van foutpositieve MGIT-diagnostiek kan klinische consequenties hebben.
- Ook na een langdurig ernstig ziektebeloop van TBC kan er nog heel redelijk herstel optreden en kan, ook bij forse restafwijkingen, de uiteindelijke klinische toestand acceptabel zijn.

Dankbetuiging

Dr. S.F.T. Thijsen en dr. B.M. de Jongh, beiden arts-microbioloog, respectievelijk werkzaam in Diakonessenhuis te Utrecht en Sint Antonius Ziekenhuis te Nieuwegein, gaven adviezen bij de totstandkoming van dit artikel.

Belangenconflict en financiële ondersteuning

Geen gemeld.

Afkortingen

| | |
|-------|----------------------------------------------------------|
| SEH | Spoedeisende Hulp |
| IC | Intensive care |
| PCR | Polymerase Chain Reaction (polymerase-kettingreactie) |
| INH | Isoniazide |
| RMP | Rifampicine |
| EMB | Ethambutol |
| PZA | Pyrazinamide |
| CIPNM | Critical illnesspolyneuromyopathie |
| MGIT | MycobacteriaGrowth Indicator Tube |
| LJ | Löwenstein-Jensen |
| ZN | Ziehl-Neelsen |

Referenties

1. NVMM Richtlijn Mycobacteriële laboratoriumdiagnostiek, 1 november 2006.
2. Bronkhorst W, Kraan JK. De klinische betekenis van de bacillendichtheid in tuberculeus sputum. Ned Tijdschr Geneesk 1949;93:1299-307.
3. Akkerman OW, van der Werf TS, de Boer M, de Beer JL, Rahim Z, Rossen JW, et al. Comparison of 14 molecular assays for detection of Mycobacterium tuberculosis complex in bronchoalveolar lavage fluid. J Clin Microbiol 2013;51:3505-11.

4. van Ingen J, Rahim Z, Mulder A, Boeree MJ, Simeone R, Brosch R, et al. Characterization of *Mycobacterium orygis* as *M. tuberculosis* complex subspecies. *Emerg Infect Dis* 2012;18: 653-5.
5. Horne DJ, Royce SE, Gooze L, Narita M, Hopewell PC, Nahid P et al. Sputum monitoring during tuberculosis treatment for predicting outcome: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2010;10:387-94.
6. Telzak EE, Fazal BA, Pollard CL, Turett GS, Justman JE, Blum S. Factors influencing time to sputum conversion among patients with smear-positive pulmonary tuberculosis. *Clin Infect Dis* 1997;25:666-70.
7. Shu CC, Wang JT, Lee CH, Wang JY, Lee LN, Yu CJ. Predicting results of mycobacterial culture on sputum smear reversion after anti-tuberculous treatment: a case control study. *BMC Infect Dis* 2010;10:48.
8. Panaiotov S, Amicosante M. Dynamics of the laboratory results in patients with pulmonary tuberculosis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010;67:327-32.
9. Van der Kuyp F, Mahan CS. Prolonged positivity of sputum smears with negative cultures during treatment for pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2012;16:1663-7.
10. Kim TC, Blackman RS, Heatwole KM, Kim T, Rochester DF. Acid-fast bacilli in sputum smears of patients with pulmonary tuberculosis.

- Prevalence and significance of negative smears pretreatment and positive smears post-treatment. *Am Rev Respir Dis* 1984;129:264-8.
11. Borgdorff MW, Kolk A, Van Soolingen D, Van der Meer JWM, Ottenhoff THM. Onderzoek naar nieuwe middelen voor diagnostiek, behandeling en preventie van tuberculose. *Ned Tijdschr Geneesk* 2003;147:1838-41.
12. Ritchie SR, Harrison AC, Vaughan RH, Calder L, Morris AJ. New recommendations for duration of respiratory isolation based on time to detect *Mycobacterium tuberculosis* in liquid culture. *Eur Respir J* 2007;30:501-7.
13. Williams-Bouyer N, Yorke R, Lee HI, Woods GL. Comparison of the BACTEC MGIT 960 and ESP culture system II for growth and detection of mycobacteria. *J Clin Microbiol* 2000;38: 4167-70.
14. Lu PL, Yang YC, Huang SC, Jenh YS, Lin YC, Huang HH, Chang TC. Evaluation of the Bactec MGIT 960 system in combination with the MGIT TBc identification test for detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory specimens. *J Clin Microbiol.* 2011;49:2290-2.
15. Fadzilah MN, Ng KP, Ngeow YF. The manual MGIT system for the detection of *M. tuberculosis* in respiratory specimens: an experience in the University Malaya Medical Centre. *Malays J Pathol.* 2009;31:93-7.

Verkorte productinformatie Difliclr® 200 mg

▼Dit geneesmiddel is onderworpen aan aanvullende monitoring. Daardoor kan snel nieuwe veiligheidsinformatie worden vastgesteld. Beroepsbeoefenaars in de gezondheidszorg worden verzocht alle vermoedelijke bijwerkingen te melden via de website van het Nederlands Bijwerkingen Centrum Lareb (www.lareb.nl). **Samenstelling:** elke filmomhulde tablet bevat 200 mg fidaxomicine. **Farmacotherapeutische groep:** Antidiarree middelen, intestinale anti-inflammatoire/anti-infectie middelen, antibiotica, ATC-code: A07AA12. **Therapeutische indicatie:** Behandeling van *Clostridium difficile*-infecties (CDI), ook wel C. difficile-geassocieerde diarree (CDAD) bij volwassenen. Er dient rekening te worden gehouden met officiële richtlijnen betreffende het juiste gebruik van antibacteriële middelen. **Dosering en wijze van toediening:** Dosering voor volwassenen en ouderen (≥ 65 jaar) is 200 mg (één tablet) tweemaal daags (om de 12 uur), oraal, gedurende 10 dagen. Difliclr 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:** Overgevoeligheidsreacties waaronder ernstige angio-oedeem zijn gerapporteerd. Indien er een ernstige allergische reactie met Difliclr optreedt dient het gebruik gestaakt te worden en passende maatregelen te worden genomen. Sommige patiënten met overgevoeligheidsreacties hebben een voorgeschiedenis van allergie voor macroliden gemeld. Voorzichtigheid is geboden bij patiënten met een bekende macrolidenallergie. Difliclr dient met voorzichtigheid gebruikt te worden bij patiënten met ernstig verminderde nierfunctie, matig tot ernstig verminderde leverfunctie, pseudomonasbronchitis, inflammatoire darmziekte en fulminante of levensbedreigende CDI. Uit voorzorg heeft het de voorkeur het gebruik van Difliclr te vermijden tijdens de zwangerschap. Ondanks dat er geen effecten op met moedermelk gevoede pasgeborenen/zuigelingen worden verwacht, kan een risico voor de pasgeborenen/zuigelingen niet worden uitgesloten. Er moet worden besloten of borstvoeding moet worden gestaakt of dat behandeling met Difliclr moet worden gestaakt dan wel niet moet worden ingesteld (zie volledige SPC). **Interacties:** Gelijktijdige toediening van potente P-gp-remmers waaronder ciclosporine, ketoconazol, erytromycine, claritromycine, verapamil, dronedonare en amiodaron wordt niet aanbevolen. Difliclr is mogelijk een milde tot matige remmer van intestinale P-gp. **Bijwerkingen:** Vaak: misselijkheid, braken, obstipatie. Soms: huiduitslag, pruritus, verminderde eetlust, duizeligheid, hoofdpijn, dysgeusie, opgezette buik, flatulentie, droge mond, verhoogd alanineaminotransferase. Frequentie niet bekend: Overgevoeligheidsreacties (angio-oedeem, dyspneu). Difliclr is uitsluitend verkrijgbaar op recept. Volledige productinformatie op www.astellas.nl Astellas Pharma B.V. Sylviusweg 62, 2333 BE Leiden. Tel.: 071-5455854 SPC 26 juni 2014 14-DIF-010

Referentie: 1. DIFLICLR samenvatting van de Productkenmerken, juni 2014. 2. www.swab.nl



Verkorte productinformatie VFEND (opgesteld, juli 2014). De volledige productinformatie (SPC) is op aanvraag verkrijgbaar. Samenstelling VFEND 50 mg en 200 mg filmomhulde tabletten bevatten respectievelijk 50 mg en 200 mg voriconazol. VFEND 200 mg poeder voor oplossing voor infusie, bevat 200 mg voriconazol per flacon, overeenkomend met een 10 mg/ml oplossing na reconstitutie. VFEND 200 mg poeder en oplossing voor oplossing voor infusie, bevat 200 mg voriconazol per flacon, overeenkomend met een 10 mg/ml oplossing na reconstitutie. VFEND 400mg/ml poeder voor orale suspensie bevat per ml 40 mg voriconazol. **Indicaties:** Voor volwassenen en kinderen in de leeftijd van 2 jaar en ouder voor de behandeling van invasieve aspergillose, candidiasis bij niet-neutropenische patiënten, fluconazol-resistente invasieve Candida-infecties, ernstige schimmelinfecties, veroorzaakt door *Scedosporium* spp en *Fusarium* spp. VFEND dient in eerste instantie te worden toegediend aan patiënten met progressieve, mogelijk levensbedreigende infecties. Profylaxe van invasive schimmelinfecties bij hoog risico algemene hematopoïetische stromecellulairegraft (HSCT) ontvangers. **Farmacotherapeutische groep:** Antimycotica voor systemisch gebruik. **ATC-code:** J02.AA03. **Contra-indicaties:** Overgevoeligheid voor het werkzame bestanddeel of voor één van de hulpstoffen; gelijktijdige toediening met CYP3A4-substraten (terfenadine, astemizol, cisapride, pimozide, kinidine), rifampicine, carbamazepine, fenobarbital, ergotamine-alkaloiden (ergotamine, dihydroergotamine), efavirenz doses van 400 mg eenmaal daags of hoger; ritonavir (in een dosering van tweemaal daags 400 mg en hoger), simvastatin en statinpreparaten. **Waarschuwingen en voorzorgen:** Voorzichtigheid bij toediening aan patiënten met een overgevoeligheid voor andere azolen. Voriconazol is geassocieerd met een verlenging van het QTc-interval. Er dienen zich zeldzame gevallen voor van torsade de pointes bij patiënten behandeld met voriconazol, die risicofactoren vertonen en die gelijktijdig geneesmiddelen toegediend krijgen die mogelijk aan deze voorvalen hebben bijgedragen. Voorzichtigheid is geboden bij de toediening van voriconazol aan patiënten met potentiële pro-arrhythmische factoren. Elektrolytstoornissen dienen voor aanvang van en tijdens de behandeling met VFEND te worden gecontroleerd en gecorrigeerd. Ernstige hepatische reacties, die meestal reversibel zijn na staken van de VFEND toediening, kunnen optreden. Patiënten die VFEND krijgen, moeten nauwgezet worden gecontroleerd op hepatische toxiciteit. De klinische behandeling dient te bestaan uit laboratoriumbeoordeling van de leverfunctie (specifiek ASAT en ALAT) bij de start van de behandeling met VFEND en tenminste wekelijks gedurende de eerste maand van de behandeling. De behandelduur dient zo kort mogelijk te zijn, maar indien op basis van de bevestigende beoordeling de behandeling wordt voortgezet, kan de controlefrequentie worden vermindert tot maandelijks als er geen veranderingen zijn in de leverfunctietesten. Als de leverfunctietesten opvallend verhoogd zijn, dient VFEND te worden gestopt, tenzij de medische beoordeling van de bepalen versus het risico van de behandeling voor de patiënt voortzetting van het gebruik rechtvaardigt. Controle van de leverfunctie zowel bij kinderen als bij volwassenen te worden uitgevoerd. Er zijn meldingen geweest van langdurige bijwerkingen met betrekking tot het zicht, inclusief treble zicht, optische neuritis en papilloedeem. Acute niefalen kan voorkomen, daarom is een controle van de nierfunctie noodzakelijk. Patiënten, vooral kinderen, met risicofactoren voor acute pancreatitis dienen nauwkeurig gecontroleerd te worden tijdens de behandeling met VFEND. Controle van serumamylase of -lipase kan worden overwogen. Patiënten ontwikkelden zelden exfoliatieve huidreacties tijdens VFEND behandeling. Wanneer zich bij een patiënt huiduitslag voordoet, dient hij zorgvuldig te worden gevolgd en dient de toediening van VFEND te worden stopgezet in geval van ernstige verergering. Daarnaast is VFEND geassocieerd met fototoxiciteit en pseudoepithelio. Alle patiënten inclusief kinderen dienen tijdens de behandeling blootstelling aan direct zonlicht te mijden en maatregelen te nemen zoals beschermende kleding en zonnabrandweer met een hoge zonneschermingsfactor (SPF). **Langtermijntoediening:** Langtermijntoediening (behandeling of profylaxe) langer dan 180 dagen (6 maanden) vereist nauwkeurige beoordeling van de verhouding tussen voordelen en risico's en artsen dienen daarom de noodzaak te overwegen om de blootstelling aan VFEND te beperken. De volgende ernstige bijwerkingen zijn gerapporteerd in relatie tot langtermijntoediening met VFEND: Bij patiënten werd **algemene zwakte** van de huid (SCC) gemeld, sommige van deze patiënten hebben ernde fotoallergische reacties gehad. Als fotoallergische reacties optreden, dient multimedisch advies te worden ingewonnen en de patiënt doorverstuurd te worden naar een dermatoloog. Stoppen van de behandeling met VFEND en het gebruik van alternatieve antimycotische middelen worden overwogen. Er dient systematisch en regelmatig dermatologisch beoordeling plaats te vinden, wanneer de behandeling met VFEND wordt voortgezet ondanks het optreden van fotoallergische reacties om pruriginieuze laesies vroegtydig te kunnen detecteren en behandelen. De behandeling met VFEND dient te worden gestopt indien primair gemiddelde huidtoxiciteit of fototoxiciteit optreedt. Bij transiente asthenie is er geen verhoogd risico op ernstige bijwerkingen met verhoogde galactose intolerantie. Als een patiënt slecht in radiologische bevindingen ontwikkelt die passen bij peritonitis, dient na multimedisch advies de stopzetting van de behandeling met VFEND overwogen te worden. Ondanks de leeftijd van twee jaar zijn de veiligheid en werkzaamheid van VFEND niet aangetoond. Voriconazol is geïndiceerd voor pediatrische patiënten van twee jaar of ouder. De orale biologische beschikbaarheid kan beperkt zijn bij pediatrische patiënten van 2 tot 12 jaar met milde tot ernstige nier- of leverfunctiestoornissen. In dit geval is de intraveneuze toediening van voriconazol aanbevolen. De frequentie van fotoallergische reacties is hoger bij pediatrische patiënten. Omdat een verandering naar SCC is gerapporteerd, zijn voor deze groep patiënten stringente maatregelen voor bescherming tegen licht gerechtvaardigd. Kinderen met kletsel door ontvulling door licht, zoals lenzen van de ogen, worden vermelding van een dermatologische controle aanbevolen, zelfs na het stoppen van de behandeling. **Puberteit:** Het geval van behandelingsgereleerde bijwerkingen (hepatotoxiciteit, ernstige huidreacties, fototoxiciteit en SCC, ernstige of aanhoudende visuele stoornissen en peritonitis) moet het gebruik van voriconazol geïndiceerd worden en het gebruik van alternatieve antimycotische middelen moet overwogen worden. Bij gelijktijdig gebruik met fenytoïne of rifabutine wordt een zorgvuldige controle van de fenytoïne- of rifabutine-gevoeligheid of volledige bloedtelling (bij rifabutine) aanbevolen. Gelijktijdig gebruik van voriconazol en fenytoïne of rifabutine dient vermeden te worden, tenzij het voordeel opweegt tegen het risico. Bij gelijktijdig gebruik met efavirenz dient de dosis voriconazol verhoogd te worden tot 400 mg om de 12 uur en dient de dosis efavirenz verhoogd te worden tot 300 mg om de 24 uur. Gelijktijdig gebruik met een lage dosis ritonavir (100 mg tweemaal daags) en efavirenz dient vermeden te worden. Een frequente controle op methadon-geleerde angstige bijwerkingen en toxiciteit, waaronder QTc-verlenging, wordt aanbevolen bij gelijktijdige toediening van voriconazol. Een dosisaanpassing van methadon kan noodzakelijk zijn. Verlaging van de dosis alfentanil, fentanyl en andere kortwerkende opiaten die een op alfentanil gebaseerde structuur hebben en door CYP3A4 gemetaboliseerd worden, dient te worden overwogen bij gelijktijdige toediening met voriconazol. Aangezien de halfwaardige tijd van alfentanil 4-voudig verlengd wordt wanneer alfentanil gelijktijdig met voriconazol wordt toegediend en aangezien het gelijktijdig gebruik van voriconazol met fentanyl resulteert in een verhoging van de gemiddelde AUC₀₋₂₄ van fentanyl, kan het nodig zijn de opioïdgerelateerde bijwerkingen regelmatig te controleren (inclusief een langer toezicht op de ademhalingsvertraging van de dosis oxycodon en andere langwerkende opiaten die door CYP3A4 gemetaboliseerd worden, dient te worden overwogen bij gelijktijdige toediening met voriconazol. Het kan nodig zijn de opioïdgerelateerde bijwerkingen regelmatig te controleren. De gelijktijdige toediening van oraal voriconazol en oraal fentanyl resulteert in een significante verhoging van de Cmax en AUC van voriconazol bij gezonde proefpersonen. Controle van de met voriconazol geassocieerde bijwerkingen is aanbevolen als voriconazol op een andere manier wordt gebruikt. De tabletten bevatten lactose en mogen niet gebruikt worden bij Lapp-Lactose-deficiënte of glucose-galactose-intolerantie (inclusief de orale suspensie bevat saccharose en mag niet gebruikt worden bij patiënten met zeldzame, erfelijke problemen van fructose-intolerantie, sucrose-isomaltose-deficiëntie of glucose-galactose-intolerantie). **Bijwerkingen:** De meest gerapporteerde, zeer vaak voorkomende bijwerkingen (s1/100) zijn: perifer oedeem, hoofdpijn, visusstoornis (inclusief treble zicht, chromatopsie en fotofobie), ademnood, buikpijn, misselijkheid, braken, diarree, afwijkingen in leverfunctie testen (inclusief AST, ALT, alkalische fosfatase, gamma-glutamyltransferase [GGT], lactaatdehydrogenase [LDH], bilirubine), huiduitslag en pyrexie. Verder zijn vaak (s1/100, <1/10) waargenomen: sinusitis, sinusitis, sinusitis, sinusitis, agranulocytose, pancreatitis, **Afweziging van:** **U.S. Verpakking en Registratienummer:** VFEND, filmomhulde tabletten 50 mg EU/1/02/21/2006 (30 stuks), filmomhulde tabletten 200 mg EU/1/02/21/2018 (30 stuks) VFEND, poeder voor oplossing voor infusie 200 mg EU/1/02/21/2015 (1 injectieflacon), VFEND, poeder voor orale suspensie: EU/1/02/21/2026 (1 flacon), VFEND 200 mg poeder en oplossing voor oplossing voor infusie: EU/1/02/21/2027 (1 injectieflacon), 1 stercle pen voor oplossing van 1 steriele injectieflacon oplossing, 1 steriele spuit. **Verpakking en prijzen:** VFEND, filmomhulde tabletten en poeder voor orale suspensie worden volledig vergoed binnen het GVS. VFEND 200 mg poeder (en oplossing voor oplossing voor infusie wordt vergoed volgens de lijst "add-on". Voor prijzen wordt verwezen naar de 2 Index taar. Voor medische informatie over dit product belt u met 0800-MEDINFO (86346366). **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, 2000 AA Capelle a/d IJssel. **Referenties:** 1. Vondt "Samenvatting van de productkenmerken, 2014. 2. Maschayev G, et al. *Drugs*. 2007;67(11):1567-60. 3. Herbert R, et al. *Antifungal therapy in leukemia patients*. Update ECL 4, September 6, 2011. 4. Walsh T, et al. *Clin Infect Dis*. 2008;46(3):327-60. 5. Herbert R, et al. *N Engl J Med*. 2002;346(16):1408-15.



14.VFE.45.6.

Het influenzaseizoen 2013/2014 in Nederland: lage influenza-activiteit

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

Samenvatting

Er was weinig influenza in het seizoen 2013/2014. De incidentie van influenza-achtige ziektebeelden (IAZ) fluctueerde tussen week 2 en 16 rond de epidemische drempel, die in drie korte perioden werd overschreden, met een piekwaarde in week 7 van 8,6 IAZ per 10.000 inwoners. Type A was dominant, waarbij A(H3N2)-virussen overheersten. Bij geen van de vier circulerende virussen – A(H1N1)pdm09, A(H3N2) en de fylogenetische lijnen B/Victoria/2/87 en B/Yamagata/16/88 – werd ten opzichte van 2012/2013 significante antigenetische drift geconstateerd. De gebruikte vaccinstammen kwamen goed overeen met de epidemische A(H1N1)pdm09-virusisolaten, maar net als in het vorige seizoen niet optimaal met de A(H3N2)- en B/Yamagata/16/88-lijnvirusisolaten. Voor seizoen 2014/2015 op het noordelijk halfrond heeft de WHO dezelfde vaccinreferentiestammen aanbevolen als voor afgelopen seizoen, namelijk:

- voor A(H1N1)pdm09: een A/California/7/2009-achtig virus
- voor A(H3N2): een A/Texas/50/2012-achtig virus
- voor B, lijn B/Yamagata/16/88: een B/Massachusetts/2/2012-achtig virus

Van de 374 virusisolaten die werden onderzocht op gevoeligheid voor antivirale middelen was er één, een A(H1N1)pdm09-virusisolaat, dat in het gen voor neuraminidase de H275Y-mutatie vertoonde, die is geassocieerd met sterk verminderde gevoeligheid voor oseltamivir, welke in de fenotypische test daadwerkelijk werd aangetoond.

Trefwoorden

Influenza, antigenetische drift, epidemiologie, vaccin, antivirale middelen

Influenzavirussen

Influenzavirussen worden onderverdeeld in de typen A, B en C. Binnen type A worden *subtypen* onderscheiden, waarvan A(H3N2) en A(H1N1)pdm09 sinds respectievelijk 1968 en 2009 voorkomen in de menselijke bevolking.^{1,2} Binnen type B circuleren twee fylogenetische lijnen,

genaamd B/Victoria/2/87-lijn en B/Yamagata/16/88-lijn, die ook antigenetisch van elkaar verschillen.³ Alle vier genoemde soorten influenzavirus ondergaan regelmatig kleine antigenetische veranderingen (*antigenetische drift*) die kunnen worden gekwantificeerd met de hemagglutineringsremmingstest (HAR).^{1,2} Het huidige in Nederland gebruikte influenzavaccin bevat geïnactiveerd virus van de beide subtypen A(H1N1)pdm09 en A(H3N2) en één van de twee B-lijnen, en wordt jaarlijks aangepast aan de eventuele antigenetische veranderingen. De antivirale neuraminidaseremmers oseltamivir en zanamivir beschermen tegen influenza A en B, de M2-ionkanaalblockers amantadine en rimantadine alleen tegen type A.

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 de oorzakelijke virussen te detecteren en te karakteriseren op antigenetische reactiviteit en gevoeligheid voor antivirale middelen.

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, dr. J.C. de Jong, virologen, Erasmus MC, afdeling Viroscience, Nationaal Influenza Centrum, Postbus 2040, 3000 CA Rotterdam, dr. G.A. Donker, huisarts-epidemioloog, Peilstations, NIVEL Zorgregistraties eerste lijn, Postbus 1568, 3500 BN Utrecht, dr. A. Meijer, viroloog, RIVM, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Centrum Infectieziektebestrijding, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven, dr. W. van der Hoek, arts-epidemioloog, RIVM, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Centrum Infectieziektebestrijding, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven, drs. M.M.A. de Lange, epidemioloog, RIVM, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Centrum Infectieziektebestrijding, Postbus 1, 3720 BA 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 40 peilstations die participeren in NIVEL Zorgregistraties eerstelijns registreren wekelijks het aantal patiënten dat zich bij de deelnemende huisartsen meldt met een influenza-achtig ziektebeeld (IAZ).⁴ Het NIVEL berekent daaruit een landelijke IAZ-incidentie. In Nederland is vastgesteld dat er een griep epidemie is wanneer de IAZ-incidentie twee achtereenvolgende weken de drempelwaarde van 5,1 per 10.000 inwoners per week overschrijdt en er griepvirussen in de neus- en keelmonsters van de peilstations worden gevonden. Deze afspraak stamt uit 2007 toen de Europese influenzasurveillance-organisatie EISS voor alle deelnemende landen statistisch een epidemische drempelwaarde berekende uit de IAZ-incidenties in de tien voorgaande griepseizoenen buiten de epidemische perioden.

Tevens worden wekelijks steekproefsgewijze genomen klinische monsters afkomstig van bovengenoemde patiënten met een IAZ of een andere acute respiratoire infectie door het NIC-RIVM met de real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) onderzocht op influenzavirus, respiratoir syncytieel (RS) virus, rhinovirus en enterovirus.⁵ Bij een positieve influenzavirusuitslag wordt getracht het influenzavirus te kweken. Daarnaast ontvangt het NIC-Erasmus MC influenzavirussen van diagnostische ziekenhuislaboratoria. Alle verkregen virusisolaten worden in het NIC-Erasmus MC nader geanalyseerd met de HAR. Het voorkomen van antigene drift wordt beoordeeld aan de hand van resultaten verkregen met antisera tegen virusisolaten uit een bepaald seizoen die zijn geïsoleerd en gekweekt in zoogdiercelcultuur, meestal Madin–Darby canine kidney (MDCK)-cellen. De reden hiervan is dat passage in bebroede kippeneieren (waarin de meeste influenzaviruspreparaten van de WHO worden gekweekt) kan resulteren in antigenetische veranderingen.⁶ Liggen de titers van genoemde antisera tegen het merendeel van de virusisolaten uit een later influenzaseizoen een factor vier of meer lager dan de homologe titers, dan is er volgens afspraak antigene drift opgetreden.

Daarnaast worden de virusisolaten 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.^{2,5,7} Ziekenhuizen verzenden uit zichzelf virussen met resistentie tegen neuraminidaseremmers naar het NIC-RIVM voor nader onderzoek. Wekelijks worden klinische en 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

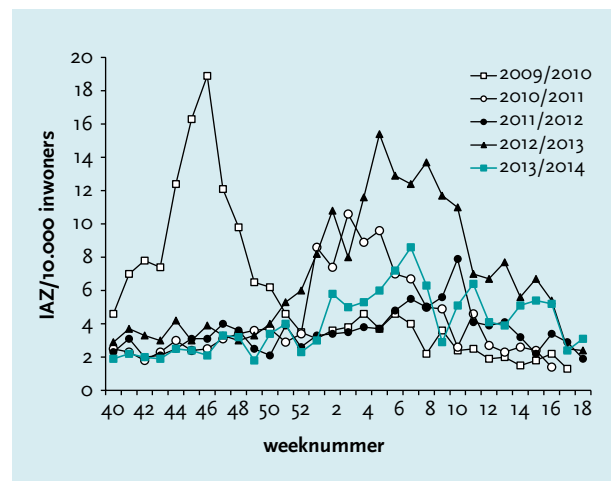
de virusisolaten naar het WHO Collaborating Centre in Londen verzonden. De WHO brengt elk jaar in februari en september advies uit over de vaccinsamenstelling voor het daaropvolgende influenzaseizoen op het noordelijk respectievelijk zuidelijk halfrond.⁸⁻¹⁰

Resultaten en discussie

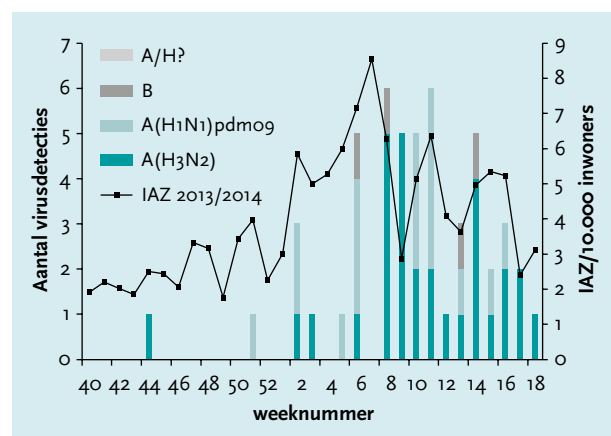
De influenza-epidemie van het seizoen 2013/14

Er was weinig influenza in het seizoen 2013/2014. De incidentie van IAZ fluctueerde in week 2 – 16 van 2014 rond de epidemische drempelwaarde, die in week 4 – 8

Figuur 1. Klinische influenza-activiteit in Nederland in de seizoenen 2009/2010 (pandemisch seizoen) tot en met 2013/2014 (blauwe lijn) weergegeven als het wekelijkse aantal patiënten met een influenza-achtig ziektebeeld (IAZ) per 10.000 inwoners, aangemeld bij de peilstations. Bron: NIVEL Zorgregistraties eerstelijns.⁴

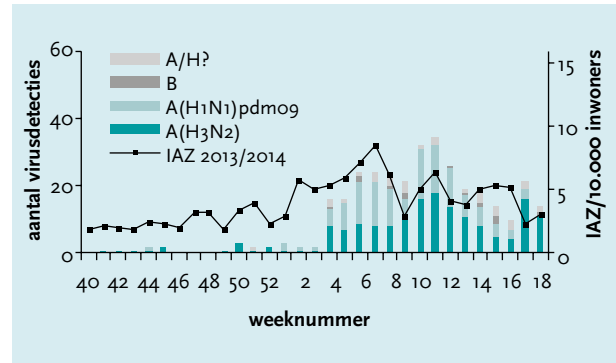


Figuur 2. Virusdetecties in het influenzaseizoen 2013/2014 in door de peilstations afgenomen monsters van patiënten met een influenza-achtig ziektebeeld (IAZ). Afgebeeld zijn de wekelijkse aantallen influenzavirusdetecties, opgesplitst naar (sub)type. De aantallen zijn weergegeven als balken, af te lezen op de linker verticale as. Bron: RIVM.⁵ Tevens is weergegeven het aantal IAZen per 10.000 inwoners per week, af te lezen op de rechter verticale as. Bron: NIVEL Zorgregistraties eerstelijns.⁴



en de weken 10, 11, 15 en 16 werd overschreden met een hoogste waarde van 8,6 IAZ per 10.000 inwoners in week 7 (figuur 1).⁴ De cumulatieve IAZ-incidentie was vergelijkbaar met die in 2010/2011 en 2011/2012 en lager dan die in 2009/2010 en 2012/2013.⁴ Misschien was de influenza-activiteit zo beperkt wegens het uitblijven van antigene drift bij alle vier circulerende influenzavirussen en de uitzonderlijk milde winter. De winter van 2013/2014 was volgens het KNMI in De Bilt in de periode 1902 – 2014 de op drie na zachtste. Op het mogelijke verband van het weer en griep-epidemieën zijn wij eerder ingegaan.² In het seizoen 2013/2014 werden door het NIC in totaal 426 influenzavirussen onderzocht, 71 van de peilstations (figuur 2) en 355 van de diagnostische laboratoria (figuur 3). Vanaf het begin van de NIVEL/RIVM-surveillance in 1991/92 vielen de perioden van hoge incidentie van IAZ en hoog wekelijks aantal influenzavirusdetecties in de klinische monsters goed samen. In 2013/2014 was deze correlatie minder duidelijk (figuur 2). In de weken 4 – 8 lag de IAZ-incidentie ruim boven de epidemische drempelwaarde bij lage aantallen influenzavirusdetecties. Pas in de weken 8 – 11 werden significante aantallen influenzavirussen aangetoond maar toen schommelde de IAZ-incidentie rond de epidemische drempelwaarde. Ook bij de inzendingen uit de diagnostische laboratoria werden de meeste influenzavirusmonsters per week ontvangen in weken 10 – 12 (figuur 3). De verklaring van het tijdsverschil lijkt te liggen in het verloop van de wekelijkse percentages van influenzavirus-, rhinovirus- en RS-virusdetecties in de klinische monsters (figuur 4). In de weken 4 – 8 was gemiddeld slechts 17 procent

Figuur 3. Virussen in het influenzaseizoen 2013/2014 verzonden naar het Erasmus MC vanuit diagnostische ziekenhuislaboratoria. Afgebeeld zijn de wekelijkse aantallen virussen, opgesplitst naar (sub)type. De aantallen zijn weergegeven als balken, af te lezen op de linker verticale as. Bron: Erasmus MC. Tevens is weergegeven het aantal IAZen per 10.000 inwoners per week, af te lezen op de rechter verticale as. Bron: NIVEL Zorgregistraties eerste lijn.⁴

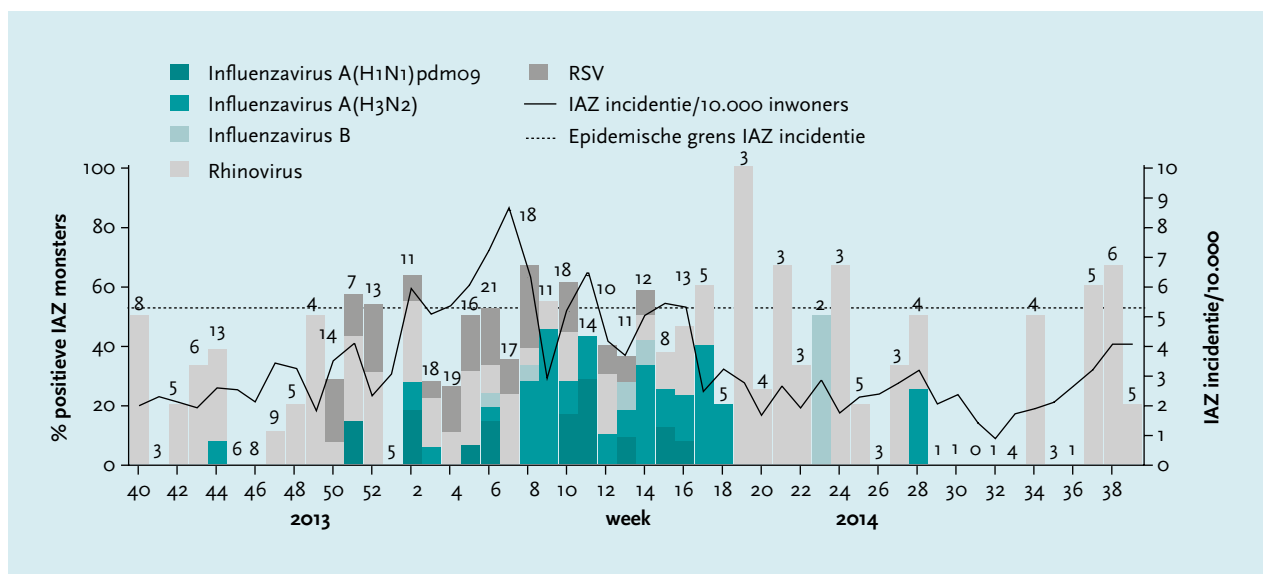


van de monsters influenzaviruspositief tegen 38 procent (passend bij een influenza-epidemie) in de weken 8 – 11.

Overzicht van de onderzochte influenzavirussen

In het seizoen 2013/2014 werden door het NIC in totaal 426 influenzavirussen onderzocht (figuren 2 en 3 en tabellen 1 en 2). Evenals in vorige seizoenen, konden de meeste hiervan niet worden gekweekt, hetzij door een te laag virusgehalte bij de monsterafname, of door inactivering daarna, of door verminderde affiniteit van het virus voor de virusreceptoren op de gastheercellen bij subtype

Figuur 4. Virusdetecties in het influenzaseizoen 2013/2014 in door de peilstations afgenomen monsters van patiënten met een influenza-achtig ziektebeeld (IAZ). Uitgezet zijn in de balken de percentages van detecties van influenzavirus, rhinovirus en RS virus per week (linker as), en in de curve het wekelijkse aantal patiënten met een influenza-achtig ziektebeeld (IAZ) per 10.000 inwoners (rechter as). Boven de balken staan de aantallen ontvangen monsters. Bronnen: RIVM en NIVEL Zorgregistraties eerste lijn.^{4,5}



Tabel 1. Influenzavirusdetecties door het NIC-RIVM in respiratoire monsters van patiënten met IAZ of een acute respiratoire infectie gemeld door de peilstations van week 40 van 2013 tot en met week 39 van 2014, en gerapporteerd door de peilstations van 26 landen aan het European Centre for Disease Control and Prevention ECDC van week 40 van 2013 tot en met week 18 van 2014.¹¹

| Type A | | Type B | |
|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| Nederland: 62 (87%) Europa: 6865 (98%) | | Nederland: 9 (13%) Europa: 168 (2%) | |
| Gesubtypeerd | | Fylogenetische lijn bepaald | |
| A(H1N1)pdm09: NIVEL: 24 (39%) ECDC: 3405 (54%) | A(H3N2): NIVEL: 38 (61%) ECDC: 2958 (46%) | B/Victoria/2/87: NIVEL: 2 (22%) ECDC: 11 (17%) | B/Yamagata/16/88: NIVEL: 7 (78%) ECDC: 56 (84%) |

Tabel 2. Influenzavirussen in monsters ontvangen door het NIC-Erasmus MC uit Nederlandse diagnostische laboratoria van week 40 van 2013 tot en met week 39 van 2014.

| Type A: 337 (95%) | | | Type B: 18 (5%) | | |
|----------------------------|-----------------------|---------------------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| Gesubtypeerd: 312 (93%) | | Niet gesubtypeerd: 25 (7%) ¹⁾ | Fylogenetische lijn bepaald: | | Onbepaald: 2 (11%) |
| A(H1N1): 127 (41%) | A(H3N2): 185 (59%) | | 16 (89%) | B/Yamagata/16/88: 12 (75%) | |

1) Bij deze monsters kon wegens onvoldoende virus geen subtypering met kweek of PCR worden verricht.

Tabel 3. Antigene analyse van Nederlandse influenza A(H1N1)-virusisolaten uit het seizoen 2013/2014. Weergegeven zijn de titers van frettenantiserum bereid met referentiestammen, de vaccinstam en representatieve Nederlandse virusisolaten, 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/602 | A/N/007 | A/N/195 | A/N/529 |
| A/California/4/2009 ²⁾ | | 1280 | 1280 | 1280 | 640 | 1280 | 1280 |
| X-181 ³⁾ | | 640 | 2560 | 1280 | 1280 | 1280 | 1280 |
| A/Netherlands/602/2009 | 2009/2010 | 1280 | 1280 | 2560 | 1280 | 1280 | 1280 |
| A/Netherlands/007/2010 | 2010/2011 | 1280 | 1280 | 2560 | 2560 | 2560 | 1280 |
| A/Netherlands/195/2012 | 2011/2012 | 2560 | 2560 | 1280 | 2560 | 2560 | 2560 |
| A/Netherlands/529/2012 | 2012/2013 | 1280 | 1280 | 2560 | 1280 | 2560 | 1280 |
| A/Netherlands/2248/2013 | 2013/2014 | 2560 | 1280 | 2560 | 1280 | 2560 | 2560 |
| A/Netherlands/2256/2013 | 2013/2014 | 1280 | 1280 | 1280 | 1280 | 2560 | 1280 |
| A/Netherlands/016/2014 | 2013/2014 | 640 | 1280 | 1280 | 1280 | 1280 | 1280 |
| A/Netherlands/232/2014 | 2013/2014 | 1280 | 1280 | 2560 | 1280 | 2560 | 2560 |
| A/Netherlands/301/2014 | 2013/2014 | 1280 | 1280 | 1280 | 1280 | 2560 | 2560 |
| A/Netherlands/321/2014 | 2013/2014 | 1280 | 1280 | 2560 | 1280 | 2560 | 2560 |

1) Alle virusstammen werden aangekweekt op MDCK-cellen. Virusnamen: 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 hemagglutinaties van kalkoenerythrocyten door een standaarddosis van het influenzavirus in de betreffende rij nog juist volledig remt. Homologe titers zijn vet gedrukt. Verschillen tussen titers uit verschillende kolommen zijn niet van informatief. Binnen één kolom zijn de titers wel vergelijkbaar, waarbij alleen titerverschillen van ten minste 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 2014/2015.⁹

3) X-181, een reassortant van A/California/7/2009, was de vaccinstam voor de seizoenen 2012/2013 en 2013/2014.⁹

A(H3N2).² Door de hoge gevoeligheid van de PCR kon in de betreffende monsters toch meestal influenzavirus worden aangetoond en gesubtypeerd.

Uit de resultaten van de virussen uit peilstations bleek type A sterk dominant, waarbij A(H3N2)-virussen overheersten (tabel 1). Bij type B prevaleerden virussen van de B/Yamagata/16/88-lijn. De verhoudingen tussen de vier virussoorten kwamen in grote lijnen overeen met de door de peilstations van de landen van de Europese Unie (EU) aan het ECDC gerapporteerde verhoudingen, behalve dat in Nederland binnen type A subtype A(H3N2) subtype prevaleerde en in de EU A(H1N1)pdm09.¹¹ Binnen type B kwamen ook in de EU virussen van de B/Yamagata/16/88-lijn het meeste voor.

Ook bij de monsters uit diagnostische ziekenhuislaboratoria domineerde type A, met A(H3N2) weer als meest voorkomend subtype (tabel 2). Bij type B werden ook hier virussen van de B/Yamagata/16/88-lijn het meeste ingestuurd.

Karakterisering influenza A(H1N1)pdm09-virussen

De A(H1N1)pdm09-virusisolaten van het seizoen 2013/2014 reageerden in de HAR ongeveer gelijk aan de Nederlandse virusisolaten verkregen sinds 2009, de WHO-vaccinreferentiestam A/California/4/2009 en de vaccinstam X-181, in gebruik sinds 2012/2013 (tabel 3, kader). Dit betekent dat sinds het pandemisch verschijnen van A(H1N1)pdm09 in 2009 in dit subtype geen significante antigene drift is opgetreden en dat het vaccin in het afgelopen seizoen optimale bescherming tegen de epidemische A(H1N1)pdm09-virussen heeft geboden. De WHO heeft de stam A/California/7/2009 opnieuw gekozen als vaccinreferentiestam voor 2014/2015 op het noordelijk en 2015 op het zuidelijk halfrond.^{9,10}

Karakterisering influenza A(H3N2)-virussen

De A(H3N2)-virusisolaten van het seizoen 2013/2014 reageerden eveneens ongeveer gelijk aan de Nederlandse virusisolaten verkregen sinds 2009/2010, alleen antiserum tegen A/Netherlands/700/2011 gaf tegen meerdere virusisolaten titers meer dan achtvoud lager dan de homologe titer (tabel 4, kader). Sinds 2009/2010 circuleert ook subtype A(H3N2) derhalve zonder significante consistente antigene drift. Antisera tegen A/Netherlands/622/2012 en A/Netherlands/2249/2013 hadden homologe titers die lager waren dan de titers tegen de meeste andere virusisolaten. De betreffende virussen worden laag-avide genoemd. Antisera tegen de vijf Nederlandse A(H3N2)-virusisolaten vertoonden tegen de WHO-vaccinreferentiestammen A/Perth/16/2009 en A/Victoria/361/2011 en de vaccinstammen IVR-165 (reassortant van A/Victoria/361/2011) en X-223A (reassortant van A/Texas/50/2012) HAR-titers die ongeveer even hoog waren als die tegen de virusisolaten zelf (tabel 4, regels 4 – 7). Dit suggereert een goede

match tussen vaccin en virusisolaten maar antisera tegen IVR-165 en X-223A geven een ander beeld. Deze laten tegen de meeste virusisolaten uit 2012/2013 en 2013/2014 titers zien die 4-8-voud lager waren dan de homologe titers (tabel 4, zesde en zevende kolom). Dit wijst op een niet optimale gelijkenis van de vaccinstammen voor 2012/2013 en 2013/2014 met de A(H3N2)-virusisolaten uit deze twee seizoenen. Dit is waarschijnlijk het gevolg van de eipassages van het vaccinvirus: adaptatie door passage in bebroede kippen-eieren kan resulteren in antigenetische veranderingen.⁶ Deze hypothese wordt gesteund door de HAR-resultaten met antiserum bereid met A/Victoria/361/2011-virus gekweekt in zoogdiercelcultuur, waarin deze antigenetische veranderingen niet optreden.⁶ Dit antiserum vertoonde wel hoge titers tegen alle geteste A(H3N2)-virusisolaten uit de seizoenen 2009/2010 t/m 2013/2014 (tabel 4, vijfde kolom).

De WHO heeft in februari 2013 geprobeerd dit probleem op te lossen door de A/Victoria/361/2011-achtige stam A/Texas/50/2012 te kiezen als vaccinreferentiestam voor 2013/2014 en als moederstam voor de bereiding van de reassortant X-223A voor het vaccin voor dit seizoen. Antisera tegen eigekweekt A/Texas/50/2012 gaven namelijk titers tegen A(H3N2)-virusisolaten uit 2012 die niet verschilden van de homologe titers.⁸ De Nederlandse A(H3N2)-virusisolaten uit 2012/2013 en 2013/2014 matchen echter niet beter met X-223A dan met IVR-165 (tabel 4, zesde en zevende kolom). De WHO rapporteerde in februari 2014 voor A(H3N2)-virusisolaten uit 2014 dezelfde bevinding maar koos voor het seizoen 2014/2015 op het noordelijk halfrond toch weer voor A/Texas/50/2012 als vaccinreferentiestam.⁹ Voor de aanbeveling voor het influenzaseizoen 2015 op het zuidelijk halfrond koos de WHO in september 2014 echter A/Switzerland/9715293/2013 als vaccinreferentiestam.¹⁰

Karakterisering virussen van de B/Victoria/2/87-lijn

Alle virusisolaten van deze lijn uit de periode 2011/2012 t/m 2013/2014 lijken op elkaar en op vaccinreferentievirus B/Brisbane/60/2008 (tabel 5, kaders). Er is in deze periode dus geen significante antigene drift opgetreden. Opvallend is dat antiserum tegen B/Malaysia/2506/2004, dat slecht reageerde met de virusisolaten uit de periode 2008/2009 t/m 2012/2013, homologe titers geeft tegen die uit 2013/2014. Deze onregelmatigheid in de antigene drift hangt mogelijk samen met de complexe genetische evolutielijnen van het influenza B-virus.³ In overeenstemming met deze bevindingen handhaafde de WHO B/Brisbane/60/2008 als vaccinreferentievirus voor de B/Victoria/2/87-lijn voor 2014/2015 en 2015.^{9,10} In het trivalente influenzavaccin is deze component niet opgenomen maar wel in het nieuwe tetravalente vaccin dat in Nederland nog niet in het Nationaal Programma Grieppreventie wordt aangeboden.

Tabel 4. Antigene analyse van Nederlandse influenza A(H3N2)-virusisolaten. Weergegeven zijn de titers van frettenantiserum bereid met referentiestammen, vaccinstammen en representatieve Nederlandse virusisolaten, bepaald in een hemagglutinatieremmingstest (HAR) met kalkoenerythrocyten.

| Virusstam ¹⁾ | Seizoen | HAR-titer ¹⁾ van antiserum van fretten geïnfecteerd met | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|-----------|--------------------------------------------------------------------|-------------|----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| | | A/ Brisbane | A/ Perth | A/ Victoria | IVR-165 | X-223A | A/N/ 377 | A/N/ 009 | A/N/ 700 | A/N/ 622 | A/N/ 2249 |
| A/Brisbane/10/2007 ²⁾ | | 640 | 40 | 320 | 40 | 80 | 640 | 80 | 20 | 80 | 40 |
| A/Perth/16/2009 ³⁾ | | 80 | 1280 | 1280 | 160 | 320 | 160 | 640 | 320 | 320 | 640 |
| A/Victoria/361/2011 cel ⁴⁾ | | 160 | 320 | 1280 | 320 | 320 | 160 | 640 | 320 | 320 | 320 |
| IVR-165 ⁵⁾ | | 320 | 320 | 1280 | 1280 | 1280 | 160 | 1280 | 320 | 320 | 640 |
| X-223A ⁶⁾ | | 320 | 640 | 2560 | 1280 | 2560 | 160 | 2560 | 1280 | 640 | 640 |
| | | | | | | | | | | | |
| A/Netherlands/377/2008 | 2008/2009 | 1280 | 320 | 2560 | 320 | 320 | 2560 | 1280 | 640 | 640 | 640 |
| | | | | | | | | | | | |
| A/Netherlands/009/2010 | 2009/2010 | 640 | 640 | 1280 | 320 | 640 | 320 | 2560 | 640 | 640 | 640 |
| A/Netherlands/700/2011 | 2011/2012 | 320 | 640 | 2560 | 320 | 640 | 320 | 2560 | 1280 | 1280 | 1280 |
| A/Netherlands/622/2012 | 2012/2013 | 160 | 320 | 2560 | 160 | 160 | 80 | 640 | 320 | 160 | 320 |
| | | | | | | | | | | | |
| A/Netherlands/2244/2013 | 2013/2014 | 320 | 320 | 1280 | 320 | 320 | 160 | 640 | 160 | 320 | 320 |
| A/Netherlands/2247/2013 | 2013/2014 | 320 | 320 | 2560 | 320 | 320 | 80 | 1280 | 320 | 320 | 640 |
| A/Netherlands/2249/2013 | 2013/2014 | 160 | 320 | 1280 | 320 | 320 | 80 | 640 | 160 | 320 | 320 |
| A/Netherlands/2254/2013 | 2013/2014 | 320 | 320 | 2560 | 320 | 160 | 80 | 640 | 640 | 320 | 640 |
| A/Netherlands/059/2014 | 2013/2014 | 320 | 320 | 1280 | 320 | 160 | 80 | 640 | 160 | 320 | 640 |
| A/Netherlands/073/2014 | 2013/2014 | 160 | 320 | 1280 | 160 | 160 | 80 | 640 | 160 | 320 | 640 |
| A/Netherlands/186/2014 | 2013/2014 | 320 | 640 | 2560 | 640 | 640 | 160 | 1280 | 640 | 640 | 1280 |
| A/Netherlands/198/2014 | 2013/2014 | 160 | 160 | 1280 | 160 | 160 | 40 | 320 | 80 | 320 | 640 |
| A/Netherlands/231/2014 | 2013/2014 | 320 | 320 | 1280 | 320 | 160 | 80 | 1280 | 640 | 640 | 1280 |
| A/Netherlands/252/2014 | 2013/2014 | 320 | 320 | 2560 | 320 | 160 | 80 | 640 | 1280 | 640 | 1280 |
| A/Netherlands/284/2014 | 2013/2014 | 160 | 160 | 1280 | 160 | 160 | 40 | 640 | 80 | 160 | 320 |

1) Zie voetnoot 1 van tabel 3.

2) A/Brisbane/10/2007 was de WHO-A(H3N2)-vaccinreferentiestam voor de seizoenen 2008/2009 en 2009/2010.

3) A/Perth/16/2009 was de WHO-A(H3N2)-vaccinreferentiestam voor 2010/2011 en 2011/2012.

4) A/Victoria/361/2011 was de WHO-A(H3N2)-vaccinreferentiestam voor 2012/2013. Het voor deze tabel gebruikte A/Victoria/361/2011-virus was een uitsluitend in MDCK-cellen (in WHO-Londen) gekweekt preparaat; het antiserum "A/Victoria" in de tabel was hiermee (in Erasmus MC) bereid.

5) IVR-165, een reassortant van A/Victoria/361/2011, was de vaccinstam voor 2012/2013.⁸

6) X-223A was de vaccinstam voor 2013/2014. Het is een reassortant van A/Texas/50/2012, een virus dat gelijk op A/Victoria/361/2011 en de WHO-A(H3N2)-vaccinreferentiestam was/zal zijn voor 2013/2014 en 2014/2015.⁹

Karakterisering virussen van de B/Yamagata/16/88-lijn

De virusisolaten van deze lijn behoorden in de negenjarige periode 2003/2004 t/m 2011/2012 tot de variant B/Florida/4/2006 (tabel 6, derde, zevende en achtste regel). De virusisolaten uit 2012/2013 en 2013/2014 lijken op elkaar en op B/Massachusetts/2/2012 (tabel 6, grote en kleine kader) maar verschillen marginaal van de hiervoor genoemde virusisolaten. Alleen antiserum tegen B/Netherlands/257/2014 laat het onderscheid duidelijk zien (tabel 6, laatste

kolom). B/Massachusetts/2/2012 was voor 2013/2014 het vaccinreferentievirus. Antiserum tegen het vaccinvirus voor 2013/2014, BX-51B, reassortant van B/Massachusetts/2/2012, geeft tegen de virusisolaten uit 2013/2014 titers die weinig verschillen van de homologe titer (tabel 6, kolom 5). In lijn hiermee handhaafde de WHO B/Massachusetts/2/2012 als vaccinreferentievirus voor 2014/2015.⁹ Voor het influenzaseizoen 2015 op het zuidelijk halfrond koos de WHO echter in september 2014 B/Phuket/3073/2013 als vaccinreferentievirus.¹⁰

Tabel 5. Antigene analyse van Nederlandse influenza B-virusisolaten van de fylogenetische B/Victoria/2/87-lijn uit het seizoen 2013/2014. Weergegeven zijn de titers van frettenantiseren bereid met referentiestammen en representatieve Nederlandse virusisolaten, bepaald in een hemagglutinatieremmingstest (HAR) met kalkoenerijthryocytten.

| Virusstam ¹⁾ | Seizoen | HAR-titer ¹⁾ van antiserum van fretten geïnfecteerd met | | | | | |
|------------------------------------|-----------|--------------------------------------------------------------------|-------------|------------|------------|-------------|-------------|
| | | B/Malaysia | B/Brisbane | B/N/385 | B/N/441 | B/N/2241 | B/N/076 |
| B/Malaysia/2506/2004 ²⁾ | | 640 | 80 | <10 | 80 | 160 | 80 |
| B/Brisbane/60/2008 ³⁾ | | 640 | 1280 | 640 | 1280 | 2560 | 1280 |
| B/Netherlands/385/2009 | 2008/2009 | 40 | 160 | 320 | 640 | 320 | 640 |
| B/Netherlands/441/2012 | 2011/2012 | 80 | 640 | 640 | 640 | 1280 | 640 |
| B/Netherlands/463/2013 | 2012/2013 | 80 | 320 | 640 | 640 | 640 | 640 |
| B/Netherlands/2241/2013 | 2013/2014 | 320 | 1280 | 320 | 320 | 1280 | 640 |
| B/Netherlands/076/2014 | 2013/2014 | 640 | 640 | 640 | 1280 | 1280 | 1280 |

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 WHO-vaccinreferentiestam voor de seizoenen 2011/2012 tot en met 2014/2015.⁹

Tabel 6. Antigene analyse van Nederlandse influenza B-virusisolaten van de fylogenetische B/Yamagata/16/88-lijn. Weergegeven zijn de titers van frettenantiseren bereid met referentiestammen, vaccinstammen en representatieve Nederlandse virusisolaten, bepaald in een hemagglutinatieremmingstest (HAR) met kalkoenerijthryocytten.

| Virusstam | Seizoen | HAR-titer ¹⁾ van antiserum van fretten geïnfecteerd met | | | | | | | |
|--------------------------------------|-----------|--------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|-----------------|------------|-------------|-------------|------------|
| | | B/Florida | B/Wisconsin | BX-51B | B/Massachusetts | B/N/087 | B/N/415 | B/N/039 | B/N/257 |
| B/Florida/4/2006 ²⁾ | | 1280 | 640 | 1280 | 640 | 1280 | 1280 | 640 | 160 |
| B/Wisconsin/1/2010 ³⁾ | | 320 | 640 | 640 | 640 | 320 | 640 | 160 | 640 |
| B/Massachusetts/2/2012 ⁴⁾ | | 640 | 640 | 1280 | 640 | 640 | 1280 | 320 | 1280 |
| BX-51B ⁵⁾ | | 1280 | 640 | 1280 | 320 | 640 | 1280 | 320 | 160 |
| B/Netherlands/087/2004 | 2003/2004 | 160 | 320 | 320 | 320 | 640 | 640 | 640 | 80 |
| B/Netherlands/415/2012 | 2011/2012 | 320 | 320 | 640 | 640 | 640 | 1280 | 640 | 80 |
| B/Netherlands/039/2013 | 2012/2013 | 640 | 640 | 1280 | 2560 | 1280 | 2560 | 1280 | 1280 |
| B/Netherlands/154/2014 | 2013/2014 | 320 | 320 | 320 | 1280 | 640 | 1280 | 640 | 1280 |
| B/Netherlands/201/2014 | 2013/2014 | 160 | 160 | 320 | 640 | 640 | 640 | 640 | 640 |
| B/Netherlands/206/2014 | 2013/2014 | 160 | 160 | 320 | 1280 | 640 | 640 | 1280 | 640 |
| B/Netherlands/250/2014 | 2013/2014 | 320 | 640 | 640 | 1280 | 640 | 1280 | 640 | 1280 |
| B/Netherlands/257/2014 | 2013/2014 | 80 | 160 | 160 | 640 | 320 | 320 | 320 | 640 |
| B/Netherlands/258/2014 | 2013/2014 | 160 | 640 | 640 | 640 | 640 | 640 | 320 | 640 |

1) Zie voetnoot 1 van tabel 3.

2) B/Florida/4/2006 was de WHO B-vaccinreferentiestam voor 2008/2009.

3) B/Wisconsin/1/2010 was de WHO B-vaccinreferentiestam voor het seizoen 2012/2013.⁸

4) B/Massachusetts/2/2012 was/is de WHO B-vaccinreferentiestam voor 2013/2014 en 2014/2015.

5) BX-51B, een reassortant van B/Massachusetts/2/2012, was/zal zijn de vaccinstam voor 2013/2014 en 2014/2015.⁹

Tabel 7. Gevoeligheid van influenzavirusisolaten uit week 40 van 2013 – week 39 van 2014 voor antivirale middelen

| Herkomst | Totaal getest | Subtype (aantal) | Genotypische testen ¹⁾ | | | | | Fenotypische testen ²⁾ | |
|------------|---------------|----------------------|-----------------------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------|-----------------------------------|----------------------|
| | | | Tenminste NA 275 | Tenminste NA 119 | Tenminste NA 292 | NA B virussen | M2 blockers | oseltamivir | zanamivir |
| RIVM | 78 | A(H1N1)pdm09 (32) | 32/32 275H | nt | nt | nt | 20/20 S31N | 18/18 NR | 18/18 NR |
| | | A(H3N2) (41) | nt | 41/41 119E | 41/41 292R | nt | 30/30 S31N | 19/19 NR | 19/19 NR |
| | | B/Victoria2/87 (1) | nt | Nt | nt | 1/1 geen mutaties | nt | 1/1 NR | 1/1 NR |
| | | B/Yamagata/16/88 (4) | nt | nt | nt | 2/2 geen mutaties | nt | 3/3 NR | 3/3 NR |
| Erasmus MC | 296 | A(H1N1)pdm09 (122) | 1/122 H275Y ³⁾ | nt | nt | nt | nv | 1/12 SGR ³⁾ | 2/2 NR ³⁾ |
| | | A(H3N2) (174) | nt | 171/171 119E | 166/166 292R | nt | nv | 4/4 NR | 4/4 NR |

NA = neuraminidase

nt = niet toepasbaar, nv = niet verricht

1) Genotypische testen, RIVM: A(H1N1)pdm09 NA 275 en A(H3N2) NA 119 en NA 292 met SNP RT-PCR, en een deel van de klinische monsters met voldoende hoge virusconcentratie: sequenzen van het complete NA segment en het complete M segment direct op de klinische monsters; Erasmus MC: A(H1N1)pdm09 NA 275 en A(H3N2) NA 119 en NA 292 met SNP RT-PCR

2) Fenotypische testen: RIVM: in-huis fluorescentie neuraminidaseremmingstest; Erasmus MC: NA-Star[®], Roche. Het niveau remming wordt vastgesteld aan de hand van de vout-verandering in IC₅₀ waarde ten opzichte van de mediane IC₅₀ over ten minste 15 eerdere normale IC₅₀ waarden. Influenza A virussen met <10-voudige verandering in IC₅₀ en influenza B virussen met <5 verandering in IC₅₀ vertonen 'normale remming' (NR). Influenza A virussen met een 10- tot 100-voudige stijging in IC₅₀, of influenza B virussen met een 5- tot 50-voudige stijging in IC₅₀ vertonen 'gereduceerde remming' (GR). Virussen met 'sterk gereduceerde remming' (SGR) zijn influenza A virussen met een >100-voudige stijging in IC₅₀ of influenza B virussen met een >50-voudige stijging in IC₅₀.

3) De A(H1N1)pdm09 stam met de H275Y-mutatie vertoonde in de fenotypische test (NA-Star[®], Roche) een sterk gereduceerde inhibitie door oseltamivir en een normale inhibitie door zanamivir.

Vaccinsamenstelling voor het seizoen 2014/15

In februari 2014 adviseerde de WHO voor het influenza-vaccin voor het seizoen 2014/2015 op het noordelijk halfrond dezelfde samenstelling als voor het seizoen 2013/2014.⁹ Deze was:

- voor A(H1N1)pdm09: een A/California/7/2009-achtig virus
- voor A(H3N2): een A/Texas/50/2012-achtig virus
- voor B: een B/Massachusetts/2/2012-achtig virus van de lijn B/Yamagata/16/88

Gevoeligheid voor antivirale middelen

Uit het seizoen 2013/2014 werden 374 influenzavirussen onderzocht op gevoeligheid voor antivirale middelen.⁷ Op één na vertoonden de geteste virussen geen verminderde remming door de neuraminidaseremmers oseltamivir en zanamivir (tabel 7). Dit ene virus, een A(H1N1)pdm09-virus, bevatte in het gen voor neuraminidase de H275Y-mutatie die wordt geassocieerd met sterk verminderde remming door oseltamivir, hetgeen in de fenotypische test inderdaad werd bewezen. Het virus vertoonde wel normale remming door zanamivir. Alle huidige influenza A-virussen zijn van nature resistent tegen de M2-ionkanaalblockers amantadine and

rimantadine. Dit werd voor de virusisolaten van 2013/2014 met genetisch en/of fenotypisch onderzoek bevestigd (tabel 7).

Conclusie

Er was weinig influenza in het seizoen 2013/2014. De incidentie van IAZ fluctueerde lange tijd rond de epidemische drempelwaarde, die in de weken 4 – 8 werd overschreden met een piekwaarde van 8,6 IAZ per 10.000 inwoners in week 7. Type A was dominant. Volgens de HAR-testen was het griepvaccin in het seizoen 2013/2014 mogelijk suboptimaal werkzaam tegen A(H3N2)- en B/Yamagata/16/88-lijnvirusisolaten.

Abstract

In the 2013/2014 season there was little influenza in the Netherlands. In weeks 2 – 16 the incidence of influenza-like illnesses (ILI) fluctuated around the epidemic threshold, which was exceeded in weeks 4 – 8, reaching a maximum of 8,6 ILI per 10,000 inhabitants in week 7. Type A was dominant, subtype A(H3N2) being the most prevalent. Compared with the 2012/2013 season, no antigenic drift was observed in any of the four circulating influenza viruses. The influenza vaccine used for the

2013/2014 season matched antigenically well with the A(H1N1)pdm09 virus isolates but suboptimally with the A(H3N2) and B/Yamagata/16/88 lineage virus isolates. Of the 374 viruses tested for sensitivity for antivirals, one, an A(H1N1)pdm09 virus, displayed the H275Y mutation that is associated with highly reduced inhibition by oseltamivir, which was actually demonstrated in a phenotypic assay.

Dankbetuigingen

Ook in het seizoen 2013/2014 waren de bijdragen van de peilstationhuisartsen van NIVEL Zorgregistraties eerstelijns – registratie en doorgeven van gevallen van IAZ en verzending van klinische monsters naar het NIC-RIVM – essentieel voor de influenzasurveillance in Nederland. Zonder de bereidwilligheid van de hoofden van de diagnostische laboratoria om influenzaviruspreparaten naar het Erasmus MC te sturen, was deze surveillance evenmin mogelijk geweest. 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, M. Pronk, M. Silva en H. de Gruyter (het NIC-Erasmus MC), M. Bagheri, T. Marzec, S. van den Brink, A-M. van den Brandt, P. Overduin en A. Teirlinck (het NIC-RIVM) en M. Heshusius-van Valen en J. Gravestijn (het NIVEL) voor de uitstekende technische ondersteuning.

Potentieel belangenconflict: G.F. Rimmelzwaan en A.D.M.E. Osterhaus zijn 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

1. Shaw ML, Palese P. *Orthomyxoviridae*. In: Knipe DM, Howley PM (eds). *Fields Virology*, 6th ed. (2013), Chapter 40, pp 1151 – 1185. Wolters Kluwer, Philadelphia.
2. De Jong JC, Donker GA, Meijer A, van der Hoek W, de Lange MMA, Rimmelzwaan GF, Osterhaus ADME. Het influenzaseizoen 2012/13 in Nederland: een milde maar langdurige epidemie. *Ned Tijdschr Med Microbiol*. 2013;21:136-43.
3. Lindstrom SE, Hiromoto Y, Nishimura H, Saito T, Nerome R, Nerome K. Comparative analysis of evolutionary mechanisms of the hemagglutinin and three internal protein genes of influenza B virus: multiple cocirculating lineages and frequent reassortment of the NP, M, and NS genes. *J Virol*. 1999 May;73:4413-26.
4. Donker GA. Jaarverslag 2013 van de Continue Morbiditeits Registratie peilstations Nederland, Utrecht, www.nivel.nl/peilstations.
5. Teirlinck AC, van Asten L, Brandsema PS, Dijkstra F, Donker GA, Euser SM, van Gageldonk-Lafeber AB, Hooiveld M, de Lange MMA, Meijer A, Slump E, van der Hoek W. Jaarrapportage Surveillance Respiratoire Infectieziekten 2013, RIVM rapport 150002006/2014, Bilthoven, <http://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/150002006.pdf>.
6. 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.
7. 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.
8. WHO. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2013-2014 northern hemisphere influenza season. *Wkly Epidemiol Rec*. 2013;88:101-14.
9. WHO. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2014-2015 northern hemisphere influenza season. *Wkly Epidemiol Rec*. 2014;89:93-104.
10. WHO. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2015 southern hemisphere influenza season. *Wkly Epidemiol Rec*. 2014;89:441-56.
11. ECDC. Fortnightly influenza surveillance overview per week 18. www.ecdc.europa.eu

Acht maanden Medische Microbiologie in The Rainbow Nation

S. van Mens

In 2013 onderbrak ik mijn opleiding tot arts-microbioloog voor acht maanden om onderzoek te doen in Zuid-Afrika. Ik werkte op de onderzoeksafdeling Medische Microbiologie van de Geneeskundefaculteit van de Universiteit van Kaapstad: een kleine afdeling waar voornamelijk moleculair onderzoek wordt gedaan. Deze afdeling is gelieerd aan de diagnostische Microbiologieafdeling van het Grote Schuur ziekenhuis in het centrum van Kaapstad.

The Rainbow Nation

Zuid-Afrika, 'The Rainbow Nation', zoals Desmond Tutu het land als eerste noemde, roept bij velen onder andere associaties op van een gecompliceerde rassensituatie. Slechts 20 jaar geleden werd Apartheid er afgeschaft, wat dit jaar nog overal ter wereld uitgebreid werd herdacht naar aanleiding van het overlijden van Nelson Mandela. In Zuid-Afrika zelf zijn de gevolgen van Apartheid nog aan de orde van de dag. De Zuid-Afrikaanse bevolking kent vele kleuren en achtergronden en er bestaan nog altijd enorme sociaaleconomische verschillen tussen bevolkingsgroepen. In het centrum van Kaapstad, waar ik woonde, is het heerlijk toeven dankzij betaalbaar lekker eten, goede wijn, stranden, de Tafelberg en andere prachtige natuur om de

hoek. Hier is het makkelijk voorbij te gaan aan het feit dat op nog geen 20 kilometer afstand het grote merendeel van de Kaapse bevolking onder behoorlijk andere omstandigheden leeft. Het land doet hard haar best om de ongelijkheid als gevolg van kolonialisme en Apartheid op te heffen. Dat maakt echter ook dat het 'rassendenken' juist sterk aanwezig blijft. Zo hangt bij de ingang van het Red Cross War Memorial Children's Hospital in Kaapstad een overzicht van het personeel onderverdeeld per beroepsgroep, met in kolommen erachter de huidige verdeling in ras en geslacht alsmede de 'target' verdeling.

Onderzoeksafdeling Medische Microbiologie

De afdeling waar ik werkte is erg gemengd: naast Zuid-Afrikanen van verschillende achtergronden werken er ook veel buitenlanders, uit de Verenigde Staten en Europa, maar ook uit veel andere Afrikaanse landen. Dat zorgde voor een erg leuke inhoudelijke uitwisseling: zowel in manieren van (samen)werken als in eerdere ervaring binnen de Medische Microbiologie bracht iedereen zijn/haar eigen achtergrond mee. De sfeer was over het algemeen erg constructief en de positieve opbouwende manier waarop academische discussies werden gevoerd vond ik opvallend: typisch Zuid-Afrikaans? Zonder te willen veralgemeniseren, kan ik me voorstellen dat een land met zo'n grote interne diversiteit bij uitstek vraagt om een open werkhouding.

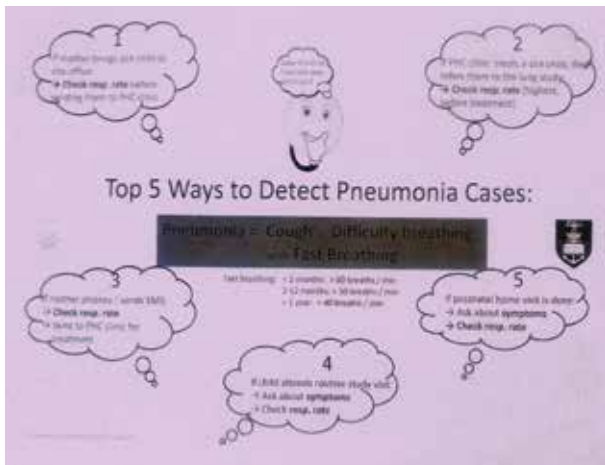
De Drakensteinstudie

Ik sloot aan bij de Drakenstein Child Lung Health Study (DCLHS), een birth cohort-studie naar de incidentie, etiologie en risicofactoren van pneumonie bij kinderen. Wereldwijd is pneumonie doodsoorzaak nummer één bij kinderen tussen de 1 en 59 maanden oud.¹ De DCLHS wordt uitgevoerd in de Drakensteinregio: een gebied in de buurt van Paarl, op zo'n drie kwartier rijden van het



Één van de Drakensteinstudiesites

Correspondentieadres: S. van Mens, AIOS medische-microbiologie, UMC Utrecht, e-mail: S.P.vanMens@umcutrecht.nl.



Informatie voor Drakensteinstudieteam

centrum van Kaapstad. De sociaaleconomische status van de lokale bevolking is laag en de incidentie van pneumonie bij kinderen onder de vijf jaar werd voor aanvang van de studie geschat op 30 per 100 kindjaren, ondanks een adequaat pneumokokken- en *Haemophilus influenzae* type b- vaccinatieprogramma. Ook binnen de DCLHS blijkt onderscheid in rassen onvermijdelijk. In de Drakensteinregio wonen twee verschillende populaties, vrijwel gescheiden van elkaar. Interimanalyse van de eerste 18 studiem maanden, gepresenteerd tijdens het International Congress on Infectious Diseases (ICID) 2014 in Kaapstad,² beschouwde de twee bevolkingsgroepen dan ook los van elkaar, gezien de grote verschillen. In de eerste regio, waar 98 procent van de bevolking Afrikaans of 'zwart' is, heeft bijvoorbeeld 38 procent van de geïncludeerde kinderen een hiv-geïnfecteerde moeder en deelt 16 procent de slaapkamer met een rokend familielid. In de tweede regio, waar 95 procent van de bevolking Gekleurd ofwel van 'gemengd ras' is, is het percentage kinderen met een hiv-geïnfecteerde moeder 3 procent en deelt 57 procent de slaapkamer met een rokend familielid. Uit deze getallen blijkt niet alleen een verschil tussen de twee bevolkingsgroepen, maar ook de hoge prevalentie van risicofactoren van pneumonie bij kinderen.

Moleculaire pneumokokkenserotyping

Mijn eigen onderzoek binnen de DCLHS betreft pneumokokkenserologie in de eerste twee levensjaren, in reactie op pneumokokkenvaccinatie en -dragerschap. Kinderen in Zuid-Afrika worden gevaccineerd met een 13-valent pneumokokkenconjugaatvaccin (PCV13) op de leeftijd van 6 weken, 14 weken en 9 maanden. Binnen de DCLHS wordt elke 14 dagen een nasofarynx-swab afgenomen om pneumokokkendragerschap in kaart te brengen. Met dragerschappercentages van meer dan 60 procent per tijdstip en een totaal aantal inclusies van meer dan 700 kinderen, waren er duizenden pneumokokken te serotyperen alvorens over te gaan op (serotypespecifieke)

antistofmetingen. Als aanzet tot het serotyperen van deze grote hoeveelheden stammen vergeleken we twee verschillende moleculaire serotypingstechnieken: een 21-plex real-time PCR en de 'sequotyping' assay,^{3,4} gebaseerd op de sequentie van het *cpsB*-gen binnen de capsulaire locus. We concludeerden dat de sequotypingassay geschikter is voor grootschalige serotyping in een setting waar wordt gevaccineerd met PCV13.

Het Grote Schuur ziekenhuis

Het faculteitsgebouw waar mijn afdeling zich bevond is via een loopbrug verbonden met het Grote Schuur ziekenhuis. Christiaan Barnard voerde er ooit de eerste harttransplantatie ter wereld uit en het ziekenhuis herbergt nu een klein museum dat dit verhaal vertelt. Tijdens mijn onderzoeksmaanden heb ik regelmatig de oversteek naar de klinisch diagnostische Microbiologieafdeling gemaakt om iets van de praktijk aldaar mee te krijgen. Wekelijks waren er 'lab rounds' en 'clinical rounds', tijdens welke artsen-microbioloog en internist-infectiologen en de assistenten van beide specialismen interessante kweken en patiënten langsliepen en met elkaar bediscussieerden. Tijdens deze rondes kwam ik in aanraking met de diversiteit aan infectieziekten waar Zuid-Afrika mee heeft te kampen, onder andere veroorzaakt door het hoge aantal hiv-besmettingen. Opvallend genoeg werd, ook midden op zaal, elke casusoverdracht gestart met het noemen van de hiv-status van de betreffende patiënt. Aan bod kwamen (multiresistente) tuberculose, amoebenleverabcessen, lepra en ook vele 'banale' infecties, vaak uitgebreid voorbehandeld in andere klinieken, waarbij de medische overdracht altijd summier was.

Mijn periode in Kaapstad was een ontzettend nuttige aanvulling op mijn ervaringen in microbiologisch onderzoek en kliniek in Nederland. Ondanks dat ik slechts een fractie heb meegekregen van de Zuid-Afrikaanse praktijk, bracht het mij veel inzicht in de internationale microbiologie.

Referenties

1. Bryce J, Boschi-Pinto C, Shibuya K, Black RE, WHO Child Health Epidemiology Reference Group. WHO estimates of the causes of death in children. *Lancet*. 2005;365:1147-52.
2. Le Roux DM, Myer L, Barnett WC, et al. Incidence and severity of childhood pneumonia in the Drakenstein Child Lung Health Study. Poster International Congress of Infectious Diseases 2014, Cape Town, South Africa.
3. Pimenta FC, Roundtree A, Soysal A, et al. Sequential triplex real-time PCR assay for detecting 21 pneumococcal capsular serotypes that account for a high global disease burden. *J Clin Microbiol*. 2013;51:647-52.
4. Leung MH, Bryson K, Freystatter K, et al. Sequotyping: serotyping *Streptococcus pneumoniae* by a single PCR sequencing strategy. *J Clin Microbiol*. 2012;50:2419-27.

Influenzavaccins: naar een nieuwe beoordeling van klinische bescherming en bijwerkingen

B. Voordouw, L. Wijnans

Trefwoorden

Griep, influenzavaccins, vaccinatie

Al enkele decennia worden verschillende geïnactiveerde influenzavaccins gebruikt in grieppreventieprogramma's. De samenstelling van deze vaccins wordt jaarlijks opnieuw door de WHO bepaald tijdens een expertbijeenkomst. Daar wordt vastgesteld welke influenzastammen het meest waarschijnlijk zullen circuleren in het komend griepseizoen. Omdat deze samenstelling meestal jaarlijks verandert, worden influenzavaccins elk jaar opnieuw geregistreerd. Daarvoor werden tot nu toe ieder jaar kleine klinische studies uitgevoerd bij 50 gezonde volwassenen en 50 gezonde ouderen. In deze studies werd 21 dagen na vaccinatie de immunorespons en lokale (bijvoorbeeld pijn op injectieplaats) en systemische (bijvoorbeeld koorts) reactogeniciteit tot zeven dagen na vaccinatie gemeten.¹ Hoewel deze studies jarenlang de basis vormden voor de herregistratie van de jaarlijks aangepaste stammen in de Europese Unie, was ook duidelijk dat deze aanpak serieuze beperkingen had. Zo bleek bijvoorbeeld dat in veel studies het aantal personen met een beschermende antistoftiter voor vaccinatie zo groot was, dat slechts een beperkt aantal personen daadwerkelijk op vaccinatie hoefde te reageren om aan de registratie-eisen te voldoen.² Het was duidelijk dat deze studies daarom geen maat voor effectiviteit van vaccinatie konden zijn, terwijl de vraag om meer inzicht hierin juist steeds vaker werd geopperd. Voor volwassenen en ouderen werden deze studies desondanks lange tijd aanvaardbaar geacht.

Voor kinderen bestond een dergelijk systeem van controle bij de jaarlijkse herregistratie niet. Met het oprichten van de 'Kinder-commissie' (Pediatric Committee 'PDCO') van het Europese Geneesmiddelen Agentschap (EMA) kwam er dan ook een discussie over het aantonen van de werkzaamheid van influenzavaccins bij vooral de jongste kinderen.³ Dit heeft ertoe geleid dat nu voor nieuwe geïnactiveerde influenzavaccins bij jonge kinderen studies moeten worden uitgevoerd die, naast de immunorespons, ook daadwerkelijk klinische bescherming tegen influenza-infecties laten zien.⁴

Naast deze nieuwe eisen voor klinisch onderzoek bij kinderen zoals vastgesteld door de PDCO is er tijdens de H1N1-pandemie van 2009/2010 veel ervaring opgedaan met klinische studies en surveillanceprogramma's. De pandemie maakte duidelijk dat door de wijze waarop tot dan toe studies met influenzavaccins werden uitgevoerd, zowel voor jaarlijkse herregistratie als voor pandemisch gebruik en voor gebruik bij kinderen, veel kansen zijn gemist om meer inzicht te krijgen in de relevante klinische effecten (zoals het voorkomen van ziekte, complicaties en mortaliteit) van vaccinatie en de rol van de immunorespons in het bieden van bescherming hiertegen.

De afgelopen drie jaar is daarom hard gewerkt aan een nieuwe richtlijn. Het is de bedoeling dat alle bestaande influenzarichtlijnen voor de verschillende toepassingen – zoals eerste registratie en jaarlijkse herregistratie van de geïnactiveerde en levend verzwakte epidemische vaccins, maar ook van de pandemische vaccins en de zogenaamde zoönotische vaccins (bijvoorbeeld H5N1, H7N9) - uiteindelijk hierdoor worden vervangen. Deze nieuwe geïntegreerde benadering moet ertoe leiden dat onderzoeken relevante gegevens opleveren die toepasbaar (en uitwisselbaar) zijn voor vaccins voor epidemisch, pandemisch en zoönotisch gebruik bij volwassenen, ouderen, kinderen en personen met overige risico's voor een ernstiger beloop van hun influenza-infectie.

In de zomer van 2015 hoeft daarom voor het eerst in decennia in de EU geen kleinschalige klinische studie te worden uitgevoerd om de immunogeniciteit van de veranderde samenstelling aan te tonen.⁵ Wel zal er nog steeds worden gevraagd naar het evalueren van de veiligheid van de vaccins in kleine studies. Dit is belangrijk omdat als onderdeel van de nieuwe benadering grote surveillancestudies en databases moeten worden opgezet

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

die structureel de effectiviteit en veiligheid van de vaccins tijdens het vaccinatie seizoen moeten meten. Het is een logistieke uitdaging om deze gegevens voor de EU tijdens de jaarlijks terugkerende massavaccinaties te verzamelen, te verwerken en met de verschillende landen te communiceren, rekening houdend met een jaarlijks veranderende epidemiologie. Uiteindelijk moet dit leiden tot een consistent en werkend systeem van (productspecifieke) surveillance en tot een beter inzicht in de waarde van de jaarlijkse influenzavaccinatiecampagnes.⁶

Uiteindelijk zal er dus voor Europa één richtlijn komen met hierin de kwaliteits-, preklinische en klinische eisen voor alle influenzavaccins en alle toepassingen.⁷ Vooralsnog is alleen het concept van de richtlijn gepubliceerd. Het doel is om nog in 2014 deze geheel nieuwe richtlijn te publiceren voor consultatie bij het grote publiek. Wie hierin geïnteresseerd is kan kijken op www.ema.europa.eu (doorklikken naar: human medicines-scientific guidelines-multidisciplinary-vaccines).

Referenties

1. Note for guidance on harmonisation of requirements for influenza vaccines. CPMP/BWP/214/96.
2. Voordouw ACG, Beyer WEP, Smith DJ, Sturkenboom MCJM, Stricker BHCh. Evaluation of serological trials submitted for annual re-licensure of influenza vaccines to regulatory authorities between 1992 and 2002. *Vaccine* 2010;28:392-7.
3. Granström M, Voordouw AC. Registration of influenza vaccines for children in Europe. *Vaccine*. 2011;29:7572-5.
4. P/184/2010: European Medicines Agency decision of 24 September 2010 on the agreement of a paediatric investigation plan and on the granting of a deferral and on the granting of a waiver for influenza virus surface antigens (haemagglutinin and neuraminidase), inactivated, trivalent, (EMEA-000632-PIP01-09).
5. Explanatory note on the withdrawal of the note for guidance on harmonisation of requirements for influenza vaccines and of the core summary of product characteristics and package leaflet for inactivated seasonal-influenza vaccines. EMA/CHMP/VWP/40560/2014.
6. Interim guidance on enhanced safety surveillance for seasonal influenza vaccines in the EU. EMA/PRAC/222346/2014.
7. Revision of guidelines for influenza vaccines. EMA/CHMP/BWP/310834/2012.

Automating the Surveillance of Healthcare-Associated Infections

M.S.M. van Mourik

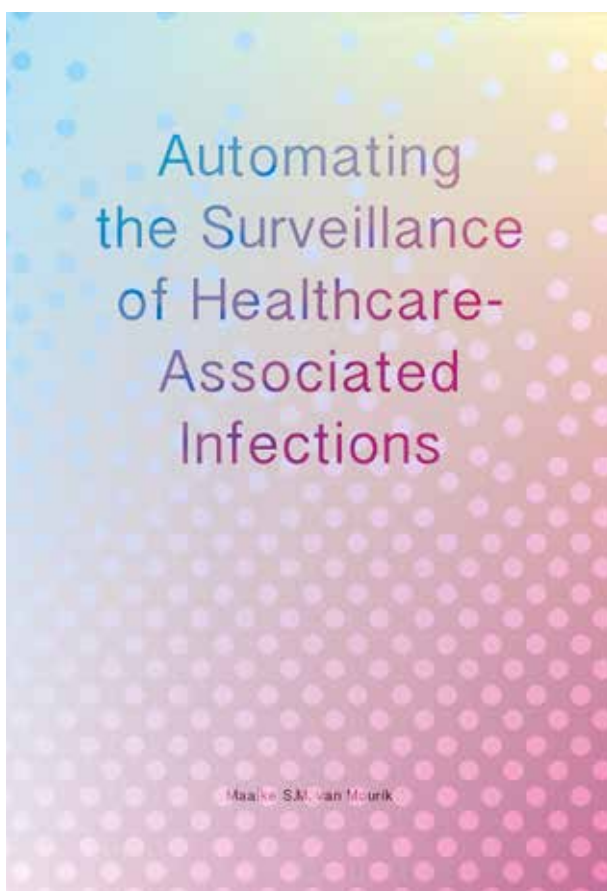
Naar schatting ontwikkelt 1 op de 25 patiënten met een ziekenhuisopname een zorggerelateerde infectie, ook wel bekend als een zorg- of ziekenhuisinfectie, één van de meest voorkomende (deels) vermijdbare complicaties van zorg. Niet alleen geeft systematische registratie van zorginfecties inzicht in het effect van interventies, de toegenomen aandacht voor het vergelijken van kwaliteit van zorg tussen ziekenhuizen onderling maakt het ontwikkelen van methoden die zorginfecties op een eenduidige manier in kaart brengen essentieel.

De momenteel meest gangbare methode van infectie-registratie, handmatig dossieronderzoek, is arbeids-intensief en foutgevoelig. Informatie moet uit veel verschillende bronnen bij elkaar worden gebracht voordat

een gestandaardiseerde definitie kan worden toegepast. Ook laten definities soms ruimte voor subjectieve interpretatie, hetgeen een consistente identificatie van zorginfecties verder bemoeilijkt. Deze beperkingen zijn een drijfveer achter de ontwikkeling van geautomatiseerde systemen die zorgdata vanuit elektronische ziekenhuisinformatie-systemen (her)gebruiken om onderscheid te maken tussen patiënten met een laag en hoog risico op een doorgemaakte zorginfectie.

Aan de hand van draingerelateerde meningitis wordt in dit proefschrift geïllustreerd hoe klinische zorgdata – operatiegegevens, antibioticagebruik, uitslagen van het klinisch-chemisch laboratorium en de medische microbiologie – kunnen worden gebruikt in multivariabele regressiemodellen om patiënten met een hoog risico op een doorgemaakte meningitis te identificeren voor handmatig statusonderzoek. In daaropvolgende validatiestudies – ook in twee onafhankelijke ziekenhuizen – wordt een gemiddelde sensitiviteit van meer dan 97 procent behaald en kan de werklust voor handmatig statusonderzoek met 80 procent worden verminderd. Toepassing van dergelijke systemen in de praktijk zal verdere ontwikkeling in data-extractie en -verwerking vergen en standaardisatie van dataregistratie is een vereiste. Daarnaast moet er rekening worden gehouden met verschillen tussen ziekenhuizen ten aanzien van gehanteerde behandelprotocollen.

In tegenstelling tot klinische gegevens, spelen administratieve gegevens zoals ontslagdiagnosecoderingen en financiële gegevens geen rol van betekenis bij de surveillance van draingerelateerde meningitis, zowel de sensitiviteit als positiefvoorspellende waarde was maximaal 35 procent. Ook uit een systematische review naar de diagnostische waarde van administratieve gegevens voor surveillance van het gehele spectrum aan zorginfecties wereldwijd, bleek dat de accuratesse van administratieve gegevens voor detectie van zorginfecties ontoereikend is.



Correspondentieadres: M.S.M. van Mourik,
e-mail: M.S.M.vanMourik-2@umcutrecht.nl.

Naast methoden van surveillance zijn ook de gebruikte definities aan verandering onderhevig. In de Verenigde Staten is recent een nieuw paradigma geïntroduceerd voor de surveillance van beademingsgerelateerde complicaties als alternatief voor conventionele surveillance van beademingspneumonie, een notoir moeilijk te diagnosticeren zorginfectie. Dit nieuwe paradigma streeft naar meer objectieve en consistente surveillance door gebruik te maken van beademingsdrukken en objectieve klinische verschijnselen om mogelijke gevallen van (infectieuze) beademingsgerelateerde complicaties op te sporen. Uit een retrospectieve cohortstudie blijkt de overeenstemming tussen de conventionele surveillance en de beademingscomplicaties geïdentificeerd door het nieuwe paradigma beperkt (sensitiviteit en positiefvoorspellende waarde zijn beide minder dan 30 procent). Opvallend was daarnaast dat hoewel elektronische implementatie van het nieuwe algoritme mogelijk was, subtiele verschillen in implementatie noemenswaardige gevolgen hebben voor de geïdentificeerde episoden van beademingscomplicaties, evenals hun attributieve sterfte. Deze nieuwe – mogelijk meer objectieve – definities garanderen onder de huidige specificaties dus niet dat de uitkomsten van surveillance vergelijkbaar en consistent zijn.

Voor een betrouwbare interpretatie van incidentiecijfers is ook een adequate correctie voor verschillen in ernst van onderliggend lijden (case-mix) nodig. Klinische zorgdata kunnen ook worden gebruikt om deze risico-

stratificatie te bewerkstelligen. Op basis van retrospectieve data over 20.028 beademde intensiverepatiënten uit een Amerikaans derdelijnsziekenhuis zijn predictiemodellen van toenemende datacomplexiteit ontwikkeld die uitsluitend op basis van elektronisch verkrijgbare data het risico op sterfte voorspellen. Deze voorspelde ernst van onderliggend lijden was ook gerelateerd aan de kans dat een patiënt een beademingsgerelateerde complicatie zal ontwikkelen.

Geautomatiseerde systemen voor infectieregistratie die klinische gegevens (her)gebruiken kunnen de capaciteitsurveillance vergroten en dragen bij aan een meer consistente surveillancemethodiek. Ontwikkeling en implementatie van deze systemen is veelbelovend, maar garandeert op zichzelf niet dat variabiliteit in surveillancemethoden geheel is ondervangen. Toekomstige ontwikkelingen in methoden van surveillance, datastandaardisatie, -registratie en correctie voor verschillen in onderliggend lijden zullen de surveillance van zorginfecties verder verbeteren.

Maaïke van Mourik promoveerde op 30 september 2014 cum laude op het bovenstaande proefschrift aan de Universiteit Utrecht. Het onderzoek is uitgevoerd onder supervisie van copromotor dr. A. Troelstra en promotoren prof.dr. M.J.M. Bonten en prof.dr. K.G.M. Moons (afdelingen Medische Microbiologie en Infectiepreventie en Julius Centrum voor Gezondheidswetenschappen en Eerstelijns geneeskunde van het UMC Utrecht).

PROMOTIES

10 september 2014 A.L. de Goede

Liposomal Nanomedicine with Short Chain Sphingolipids Modulate Tumor Cell Membrane Permeability and Improve Chemotherapy

Promotoren: prof. dr. A.D.M.E. Osterhaus, prof. dr. A.G. Vulto
Erasmus MC Rotterdam, afdeling Viroscience en afdeling Apotheek

10 september 2014 F. Kastelein

HIV Immunotherapy: Host Immunity and Virus Evolution
Promotor: prof. dr. M.J. Bruno
Erasmus MC Rotterdam, afdeling Maag-, Darm- en Leverziekten

11 september 2014 S. van Boheemen

Virus discovery and characterization using next-generation sequencing
Promotoren: prof. dr. R.A.M. Fouchier, prof. dr. A.D.M.E. Osterhaus
Erasmus MC Rotterdam, afdeling Viroscience

3 oktober 2014 S. Uzun

Characterisation and prevention of exacerbations in frequently exacerbating patients with COPD
Promotor: prof. dr. H.C. Hoogsteden
Co-promotoren: dr. M.M. van Eerden en dr. J.G.J.V. Aerts
Erasmus MC Rotterdam, afdeling Longziekten

17 oktober 2014 A. Fibrani

HIV and hepatitis virus co-infection among injecting drug users in West Java, Indonesia
Promotoren: prof. dr. C.A.B. Boucher en prof. dr. A.J.A.M. van der Ven
Co-promotoren: dr. M. Schutten en dr. R. van Crevel
Erasmus MC Rotterdam, afdeling Viroscience. Radboud UMC Nijmegen, afdeling Interne Geneeskunde, sectie Infectieziekten (Tropische Geneeskunde)

22 oktober 2014 M.P. Bauer

Clostridium difficile infection: epidemiology, complications and recurrences
Promotoren: prof. dr. J.T. van Dissel en prof. dr. E.J. Kuijper
LUMC Leiden, afdeling Infectieziekten en afdeling Medische Microbiologie

Long-term follow-up of acute Q fever patients after a large epidemic

C.C.H. Wielders

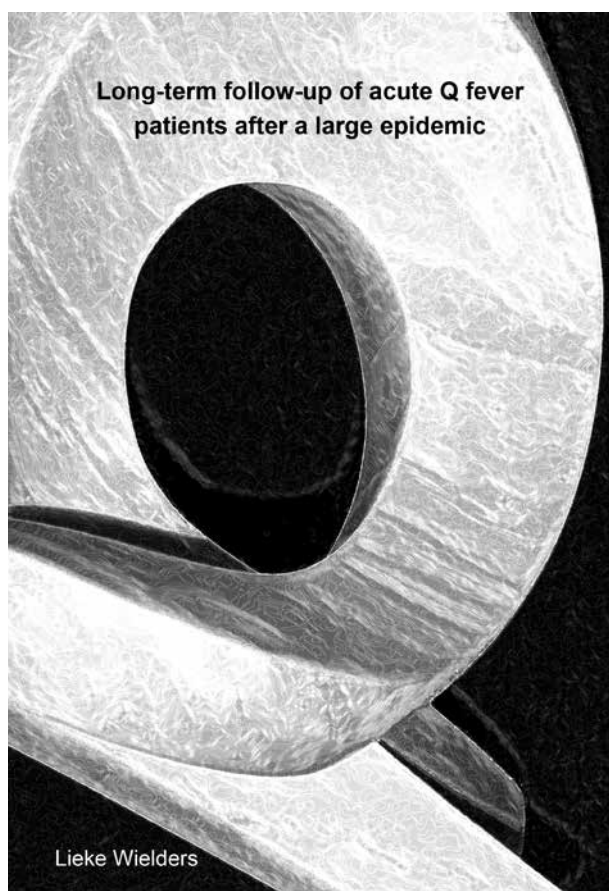
De Q-koortsepidemie in Nederland (2007–2009) – de grootste wereldwijd gerapporteerd – heeft grote gevolgen gehad voor de mensen die ziek zijn geworden, vaak met aanzienlijke langetermijneffecten op de kwaliteit van het leven. Deze epidemie bood echter ook kansen om de kennis op het gebied van Q-koorts te vergroten. Dit proefschrift bevat verschillende studies die bijdragen aan het opvullen van hiaten in de internationale Q-koortsliteratuur.

De primaire *Coxiella burnetii*-infectie verloopt asymptomatisch (60 procent) of met klachten (40 procent) variërend van een griepachtig ziektebeeld tot pneumonie of hepatitis. Na de primaire infectie kan chronische Q-koorts ontstaan, die zich voornamelijk manifesteert als endocarditis of

een vasculaire infectie. Vanwege de hoge morbiditeit en mortaliteit is vroege detectie en behandeling nodig om de prognose voor de patiënt te verbeteren. Het serologisch opvolgen van acute Q-koortspatiënten is een bewezen effectieve methode om chronische Q-koorts op te sporen, waarbij een IgG fase I titer $\geq 1:1.024$ (immunofluorescentie assay (IFA)) een belangrijke indicator is. Uit het systematische literatuuronderzoek beschreven in dit proefschrift blijkt echter dat er geen consensus is over de timing, frequentie en duur van deze follow-up na acute Q-koorts.

Vanwege de epidemie was het mogelijk een groot cohort van acute Q-koortspatiënten te volgen. In het Jeroen Bosch Ziekenhuis te 's-Hertogenbosch kregen alle patiënten routinematig serologische follow-up aangeboden na drie, zes en twaalf maanden. Ruim 1900 patiënten werden ongeveer vier jaar na de diagnose benaderd voor een extra controle. Bij een verdenking op chronische Q-koorts werd de deelnemer naar het ziekenhuis verwezen voor aanvullend onderzoek. In totaal werd in vier jaar tijd bij 4,5 procent van de 1289 deelnemers chronische Q-koorts gediagnosticeerd. Bij de meerderheid (89,7 procent) werd dit echter al in het eerste jaar na de acute infectie vastgesteld. Gebaseerd op deze resultaten wordt een eenmalige controle geadviseerd na twaalf maanden voor patiënten met acute Q-koorts die geen risicofactoren (hartklep- of vaataandoening) hebben voor een chronische infectie. Aanvullende serologische en klinische follow-up is nodig voor personen met een IgG fase I titer $\geq 1:512$ bij deze controle na twaalf maanden. Met deze adviezen zou 98 procent van de chronische Q-koortspatiënten die in het onderzoek gediagnosticeerd zijn, worden opgespoord. Het follow-up onderzoek werd gefinancierd door ZonMw (subsidienummer 205520006).

Ten tijde van de Q-koortsepidemie waren er geen nationale richtlijnen over het aanbieden van serologische controles



Correspondentieadres: dr. C.C.H. Wielders, e-mail: liekewielders@gmail.com.

en daarom gebruikte ieder Laboratorium voor Medische Microbiologie (LMM) een eigen strategie. Grote verschillen werden gevonden in het percentage patiënten dat minimaal één follow-up aangeboden kreeg binnen 15 maanden na de diagnose: 95 procent bij een LMM met een actief oproepsysteem (patiënten werden direct benaderd door het laboratorium) en 25 procent bij een LMM waarbij controles alleen worden uitgevoerd op aanvraag van de behandelend arts (odds ratio 54, 95 procent betrouwbaarheidsinterval 43–67). Het aandeel gemiste chronische infecties is mogelijk hoger in gebieden met een laag controlepercentage en daarom dienen adviezen over serologische controles te worden opgenomen in landelijke richtlijnen en in informatiefolders voor patiënten.

Uit een onderzoek naar de karakteristieken van Nederlandse acute Q-koortspatiënten opgenomen in het ziekenhuis blijkt dat zij zich meestal presenteerden met koorts en pneumonie, in tegenstelling tot patiënten uit Frankrijk waar hepatitis juist vaker wordt gezien. Opgenomen acute Q-koortspatiënten met een pneumonie waren jonger, hadden minder onderliggend lijden en lagere scores voor de ernst van de pneumonie (PSI en CURB-65) dan patiënten opgenomen met een andere, buiten het ziekenhuis opgelopen, pneumonie (community-acquired pneumonia).

Daarnaast bevat het proefschrift twee onderzoeken over diagnostische methoden. PCR is zeer effectief voor de diagnose van acute Q-koorts in de vroege fase van de infectie (eerste ziekte dag minder dan 15 dagen). Het blijkt dat bij personen die later een serologisch profiel ontwikkelden dat indicatief is voor chronische Q-koorts (IgG fase I $\geq 1:1.024$) significant hogere *C. burnetii* DNA-hoeveelheden aanwezig waren tijdens de initiële ziekte fase dan bij patiënten die lagere IgG fase I-titers hadden. Tijdens de follow-up dient daarom extra aandacht te worden geschonken aan patiënten met een grote hoeveelheid *C. burnetii*-DNA tijdens de initiële ziekte fase. Wanneer de antistofrespons tot ontwikkeling is gekomen, wordt serologie de meest belangrijke diagnostische methode. IFA, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) en complementbindingsreactie (CBR) presteren alle drie even goed bij het stellen van de diagnose binnen drie maanden na het begin van de symptomen, maar twee monsters zijn nodig om de definitieve laboratoriumdiagnose te kunnen stellen. IFA blijkt echter op de langere termijn de meest sensitieve test en wordt daarom aanbevolen voor bijvoorbeeld prevaccinatiescreening en seroprevalentieonderzoek.

Lieke Wiolders promoveerde op 1 juli 2014 aan de Universiteit Utrecht op haar proefschrift getiteld 'Long-term follow-up of acute Q fever patients after a large epidemic'. Promotor was prof. dr. R.A. Coutinho, copromotoren waren dr. P.M. Schneeberger en dr. W. van der Hoek.

PROMOTIES

22 oktober 2014 J.C. Rahamat-Langendoen

Clinical and epidemiological aspects of viral infections: a molecular approach

Promotoren: prof. dr. H.G.M. Niesters en prof. dr. E. Hak

Co-promotor: dr. E.H. Schölvink

UMC Groningen, afdeling Medische Microbiologie.

Rijksuniversiteit Groningen Research Institute of Pharmacy

21 november 2014 A.W. Bronkhorst

Small RNA-based antiviral defense in insects

Promotor: prof. dr. J.M.D. Galama

Co-promotor: dr. R.P. van Rij

Radboud UMC Nijmegen, afdeling Medische Microbiologie

25 november 2014 E.G.W. Huijskens

Clinical microbiologist; the gatekeeper of informative diagnostics

Promotoren: prof. dr. J.A.J.W. Kluytmans en

prof. dr. M. Koopmans

Co-promotoren: dr. J.W.A. Rossen en dr. M.F. Peeters†
VUmc Amsterdam, afdeling Medische Microbiologie en Infectiepreventie. Erasmus MC Rotterdam, afdeling Viroscience. RIVM Bilthoven, Laboratorium Infectieziekten en Screening/Centrum Infectieziektebestrijding

17 december 2014 M.H. Haverkamp

Primary immunodeficiencies, Mycobacteria infections, and Cytokines

Promotoren: prof. dr. J.T. van Dissel en

prof. dr. E.G.E. de Vries

LUMC Leiden, afdeling Infectieziekten. UMC Groningen, afdeling Medische Oncologie

20 januari 2015 S. Dolatabadi

Mucorales between Food and Infection

Promotoren: prof. dr. G.S. de Hoog en

prof. dr. S.B.J. Menken

Universiteit van Amsterdam, Institute for Biodiversity and Ecosystem Dynamics. Centraalbureau voor Schimmelcultures (KNAW). Universiteit van Amsterdam, Institute for Biodiversity and Ecosystem Dynamics

Micropia, het Utopia voor medisch (én moleculair) microbiologen

M.L.M. van Doorn-Schepens, A.T.R. Tholen, C.M.J.E. Vandenbroucke-Grauls

Met de toename van de antibioticaresistentie en de haast ontembare ebola-uitbraak is de aandacht al aardig gevestigd op de microbiologie. Sinds de opening van Micropia (onderdeel van Natura Artis Magistra) op 30 september 2014 kunnen we er echt niet meer omheen en is er naast alle nare berichten nu ook positieve aandacht voor onze microben.

Met de opening bereikt Nederland een kleine drieënhalve eeuw nadat Antoni van Leeuwenhoek in 1674 met zijn microscoop in troebel water 'de kleinste diertgens, die ick tot noch toe heb gezien' ontdekte, opnieuw een wereldprimeur op het terrein van de microbiologie. Micropia is namelijk 's werelds eerste museum waar de wereld van micro-organismen zichtbaar wordt gemaakt. De opening van het museum komt tijdens een periode waarin de kennis groeit over de rol die bacteriën spelen in tal van ziekten zoals Inflammatoire darmziekten, obesitas en diabetes mellitus type II. Nu is het de tijd om deze kennis met het grote publiek te delen. Bij de koninklijke opening waren wij aanwezig om voor het NTMM verslag te doen van deze gebeurtenis.

De inspiratie voor Haig Balain, sinds 2003 directeur van Natura Artis Magistra, om dit ambitieuze project tot leven



Koningin Máxima opent Micropia samen met Eveline Hensel (hoofd Micropia).

te brengen waren zijn kinderen. Terwijl hij de blauwdruk voor het Artis van de 21^{ste} eeuw aan het ontwikkelen was, zaten zijn kinderen in een belangrijke ontwikkelingsfase, de puberteit. Ze kregen een geliefde en hij vroeg zich, als bezorgde vader, af wat er gebeurde in de mond tijdens een tongzoen.

Van idee tot realisatie heeft Micropia ruim 12 jaar nodig gehad. In 2005 werd een zeer divers projectteam samengesteld om Micropia te ontwikkelen, bestaande uit onder andere een fotograaf gespecialiseerd in de fotografie van microben, schrijvers, onderwijsspecialisten, ontwerpers, microbiologen, laboranten en tentoonstellingsbouwers. Bij de realisatie is met zeer veel partijen intensief samengewerkt, onder andere met de Vrije Universiteit, het Koninklijk Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee, het Centraal Bureau voor Schimmelcultures en het Streeklaboratorium van de GGD Amsterdam. DSM heeft actief bijgedragen aan de totstandkoming en financiering van Micropia. De bouw van het museum kostte naar schatting maar liefst 10 tot 12 miljoen euro.

De hoofddoelstelling van Micropia is om het algemene publiek te introduceren tot en te interesseren voor de microbiologie, met een nadruk op het belang en de mogelijkheden van microben voor mens en natuur.

Bij binnenkomst wordt de interesse meteen gewekt. Er staat een groot scherm met de nieuwste informatie op het gebied van de microbiologie: 'Nieuwe gel kan superbacteriën doden', 'Bacterie (*Clostridium novyi*) helpt bij bestrijding van kanker', 'Aantal ebolapatiënten blijft groeien'. Deze informatie wordt dagelijks geactualiseerd door Wiebe Sloot (curator). De reis door Micropia start op een fascinerende manier. Als je omhoog kijkt terwijl je met de lift naar boven gaat wordt er steeds verder op je ingezoomd: van hoofd tot oog, van oog tot wimper, van de wimpers tot de haarmijten op de wimpers, van de

Correspondentieadres: A.T.R. Tholen, e-mail: a.tholen@vumc.nl.



Met de Bodyscan wordt zichtbaar waar op het lichaam de microben leven.

haarmijten tot de bacteriën die erop leven en vervolgens van de bacteriën tot de bacteriofagen.

Micropia is ingericht met de laatste technische hoogstandjes. Met behulp van onder andere 3D-microscopen en grote schermen kan men letterlijk de wereld van de kleinsten der aarde induiken. Op een interactieve en pakkende manier wordt men ook geïnformeerd over het hele ecosysteem dat zich op en in ons lichaam bevindt. Zo kan men een bodyscan laten doen en zie je hoeveel bacteriën je uitwisselt tijdens het zoenen op de kiss-o-meter. Niet alleen voor het algemene publiek is het boeiend maar ook voor medisch (moleculair) microbiologen. In onze dagelijkse praktijk hebben wij voornamelijk te maken met pathogenen. In Micropia zie je hoe micro-organismen in symbiose leven met andere dieren en hoe micro-organismen een rol spelen bij het produceren van voedsel en medicijnen. Dit is een hele andere kant van de microbiologie die in ons vak niet vaak wordt belicht. Zo worden er parasolmieren tentoongesteld die kleine stukjes bladeren naar hun nest brengen. Werkmieren in het nest die de bladeren fijn tot bladermoes kauwen. Schimmels die op het bladermoes groeien en vervolgens weer als voedsel dienen voor mierenlarven. Ook zeer interessant om te zien is dat micro-organismen onder de meest barre ecologische omstandigheden kunnen leven. Een hele hoek is gewijd aan deze zogeheten extremofielen. Een voorbeeld van een extremofiel is *Fragilariopsis cylindrus*.

Deze alg kan overleven in de zee van Bellingshausen (Antarctica), omdat hij in staat is antivries aan te maken. Het beerdierdje, een extremofiel die een reis in de ruimte kan overleven, is de mascotte van Micropia.

Een bezoek aan Micropia is zeker de moeite waard, dus wij willen ook niet alles verklappen. Vergeet niet de stempelkaart bij entree mee te pakken voor je het museum betreedt. Hiermee kun je stempels verzamelen van je meest favoriete micro-organismen. Aan het einde van het bezoek kun je de kaart onder een grote microscoop leggen en informatie over deze micro-organismen teruglezen op een groot scherm. Wij hebben Haig Balain gevraagd of hij een favoriet micro-organisme heeft. Daarop antwoordde hij: "Ik heb geen favoriet dier in Artis, dus ook geen favoriet micro-organisme in Micropia, ze zijn allemaal even bijzonder en fascinerend."

Het museum is geopend door Hare Majesteit Koningin Máxima met een handdruk op een levensgrote petrischaal. De tentoonstelling van deze petrischaal alleen is al reden genoeg om Micropia te bezoeken. Na een bezoek ga je het bijna jammer vinden dat er anti-Micropia (antibiotica) bestaan en wil je het kleine leven vieren.

Primer to The Immune Response

T.W. Mak, M.E. Saunders, B.D. Jett

Primer to the immune response is een twee-in-één basis-handboek, met een gedeelte basisimmunologie en een gedeelte klinische immunologie. In de eerste 12 hoofdstukken worden alle aspecten en onderdelen van het immuunsysteem geïntroduceerd. In de laatste acht hoofdstukken staat de mens centraal en wordt de kennis toegepast in de klinische praktijk. Opvallend aan het boek zijn de mooie figuren en de prettige verhouding tussen tekst en beeld. Alle figuren zijn ook online beschikbaar als presentatiedia (na registratie bij de uitgever, Elsevier). Het boek is bedoeld voor iedereen die behoefte heeft aan zowel een introductie tot als een klinische toepassing van de immunologie, van studenten klinische wetenschappen tot medisch specialisten met immunologische raakvlakken. De focus ligt met name op de eerste groep. Dit komt op verschillende manieren tot uiting, zoals in de grappig bedoelde citaten aan het begin van elk hoofdstuk (Darth Vader en Joan Baez komen voorbij), in de samenvattingen, toetsen en conceptuele vragen aan het einde van elk hoofdstuk, en de online studiegids.

In de inhoudsopgave valt de structuur van *Primer to the immune response* in positieve zin op; elk hoofdstuk is opgedeeld in verschillende secties met duidelijke titels, met maximaal vier niveaus per hoofdstuk (e.g. I,A,I,i). De structuur met de (sub)titels komt bij elk hoofdstuk terug en is ook consequent doorgevoerd op elke pagina in het boek. Omdat de secties op het laagste niveau qua tekst nooit langer zijn dan één pagina blijft het boek overzichtelijk. Zoals we nu vaak tegenkomen in handboeken, wordt ook in dit boek gebruikgemaakt van grote en kleine blokken met verschillende kleuren voor belangrijke getallen, feiten, definities, korte uitweidingen over praktische toepassing van kennis (*Note*), en korte besprekingen van grensverleggende artikelen (*Focus on relevant research*). Het is opgezet als basisboek, in de tekst wordt derhalve slechts incidenteel verwezen naar referenties, afgezien van de *Focus on relevant research*-blokken. Aan het einde van elk hoofdstuk staat een referentielijst met recente (!) artikelen die als basis hebben gediend voor de inhoud, maar die tevens dienen als springplank voor verdere verdieping in de behandelde onderwerpen.

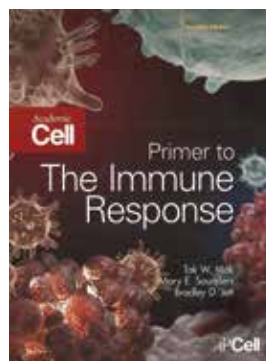
De sterke punten van dit boek zijn de brede scope, structuur, leesbaarheid, prijs-kwaliteitverhouding en figuren. Het biedt een goede introductie in voor de arts-microbioloog relevante immunologische onderwerpen.

Met name de hoofdstukken over het mucosaal immuunsysteem in relatie tot commensale flora en over immuniteit bij infectie en vaccinatie zijn behoorlijk uitgebreid. Het is echt een *primer* in beide zinnen van het woord: het vormt een stevige basis en biedt een springplank voor verdere verdieping. Ondanks dat het vakgebied van de immunologie goed voorzien is van basis- en handboeken, is de *Primer to the immune response* een interessante speler. Heeft het boek zwakke punten? Die zijn er zeker, in de details. Het is altijd afwegen hoeveel en welke details te vermelden en er moet versimpeld worden. In sommige basishoofdstukken worden feiten gepresenteerd die wellicht uniek zijn voor het bestudeerde modeldier. In het gedeelte over sepsis en endotoxineshock wordt geen informatie gegeven over belangrijke acutefase-eiwitten zoals procalcitonine (PCT) en pentraxines. Als men behoefte heeft aan klinisch immunologische diepgang, dan zijn er betere boeken te verkrijgen (zoals de laatste editie van *Essentials of Clinical Immunology* van Chapel *et al.*). Een verbeterpunt is de index; alle trefwoorden worden vermeld, maar vaak alleen de eerste vermelding in een hoofdstuk. Het loont de moeite om door te lezen. En met de index kom ik tot een ander verbeterpunt: het beschikbaar maken van een ebook-versie. Van zwakke indexen heb je minder last bij digitale versies met een redelijk werkende zoekfunctie.

Conclusie

Prima boek en mooie uitgave. Zeer geschikt als basis- en handboek voor de medisch specialist met belangstelling voor de (medische) immunologie, zoals de arts-microbioloog (in opleiding).

B. Meek



ISBN: 9780123852458
673 pagina's
Tweede druk
Uitgever: AP Cell (Elsevier)
Prijs: € 71,95
Taal: Engels

Bevrijd uw patiënt van
Clostridium difficile...

NU in
SWAB
richtlijn²

NU GVS
VERGOED!

...minimaliseer recidieven met
doelgerichte therapie!¹

Vfend® is beschikbaar voor zowel IV als orale toediening¹



Vfend®

- De gouden standaard voor behandeling van Invasieve Aspergillosis.³
- Nu ook geïndiceerd als profylaxe voor invasieve schimmelinfecties bij hoog risico allogene HSCT ontvangers.¹⁻⁴

**NIEUWE
INDICATIE**

IV/PO
VFEND®
(voriconazole)

Redt levens⁵