

Visie	
Oude en nieuwe technologie	2
<i>M.F. Peeters</i>	
Van de redactie	
Open vragen	3
<i>J.A. Kaan</i>	
Artikelen	
Dosering van aminoglycosiden bij pasgeborenen	4
<i>E.V. Uijtendaal, A. Flier</i>	
Acute keelpijn in de huisartspraktijk: invloed van streptokokken, van penicilline en van patiëntkenmerken	8
<i>S. Zwart, G.J.H.M. Ruijs</i>	
De waarde van bronchoalveolaire lavagecytologie bij de diagnose van beademingspneumonie	14
<i>J.A. Jacobs</i>	
Therapie van en handelwijze bij kinkhoestpatiënten	20
<i>F.G.A. Versteegh, J.J. Roord</i>	
Rubrieken	
Werkgroepen en verenigingen	22
Personalia	24
Promoties	24
Index achtste jaargang	25
Agenda	27
Auteursinstructies	28

1

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 Vereniging.

NVMM-secretariaat

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

Redactie

J.A. Kaan, hoofdredacteur
Mw. Dr. I.A.J.M. Bakker-Woudenberg/Dr. J.D.A. van Embden/Dr. A. Fleer/ Dr. T. van Gool/
Dr. A.M. Horrevorts/Mw. L.M. Kortbeek/
Dr. J.F.G.M. Meis/Dr. M.F. Peeters/
Prof. dr. H.A. Verbrugh

Eindredactie

Mw. I.R. van Tol
Van Zuiden Communications B.V.
Postbus 2122, 2400 CC Alphen a/d Rijn
Telefoon (0172) 47 61 91, fax (0172) 47 18 82
E-mail ivantol@zuidencomm.nl

Redactie-adviesraad

Dr. J.R.J. Bänffer/Prof. dr. C.P.A. van Boven/Dr. P.J. van den Broek/Prof. dr. R.A. Coutinho/Mw. Dr. M.S.M. Daniëls-Bosman/Prof. dr. J. Dankert/
Dr. J.E. Degener/Mw. Dr. W.C. van Dijk/Mw. Prof. dr. J.A.A. Hoogkamp-Korstanje/Dr. A.J. van Houte/
Prof. dr. D.M. MacLaren/Prof. dr. J. van der Noordaa/
Dr. A.M. Polderman/Dr. G.J.H.M. Ruijs/Prof. dr. W.J.M. Spaan/Dr. M.J.W. Sprenger/Mw. Dr. C.M.J.E. Vandenbroucke-Grauls/Prof. dr. J. Verhoef

Oplage

800 exemplaren, 4 x per jaar

Abonnementen

f 75,- per jaar voor niet-leden van de NVMM,
Europa f 90,- per jaar, losse nummers f 22,50.
Opgave abonnementen: telefoon (0172) 47 61 91

Advertentie-exploitatie



Van Zuiden Communications B.V.
Telefoon (0172) 47 61 91

Auteursrecht en aansprakelijkheid

Van Zuiden Communications B.V., 2001
Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden veeleenvoudigd, 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 auteurs verklaren dat deze uitgave op zorgvuldige wijze en naar beste weten is samengesteld; evenwel kunnen uitgever en auteurs op geen enkele wijze instaan voor de juistheid of volledigheid van de informatie. Uitgever en auteurs 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 welke zijn gedeponeerd bij de Kamer van Koophandel te Amsterdam.

ISSN 0929-0176

Visie

Oude en nieuwe technologie 2

M.F. Peeters

Van de redactie

Open vragen 3

J.A. Kaan

Artikelen

Dosering van aminoglycosiden bij pasgeborenen 4

E.V. Uijtendaal, A. Fleer

Acute keelpijn in de huisartspraktijk: invloed van streptokokken, van penicilline en van patiëntkenmerken 8

S. Zwart, G.J.H.M. Ruijs

De waarde van bronchoalveolaire lavagecytologie bij de diagnose van beademingspneumonie 14

J.A. Jacobs

Therapie van en handelwijze bij kinkhoestpatiënten 20

F.G.A. Versteegh, J.J. Roord

Rubrieken

Werkgroepen en verenigingen 22

Personalia 24

Promoties 24

Index achtste jaargang 25

Agenda 27

Auteursinstructies 28

Oude en nieuwe technologie

Tot voor kort kende de klinische diagnostische microbiologie drie benaderingen:

1. de microscopie, 2. de kweek van micro-organismen en het bestuderen van de eigenschappen (zoals antimicrobiële gevoeligheid) en 3. de serologie. Voor een groot deel van ons werk geldt dat overigens steeds. Toch worden in een rap tempo ook in de niet-universitaire laboratoria voor medische microbiologie moleculair-biologische technieken geïntroduceerd. Dat gebeurt niet alleen omdat bepaalde micro-organismen niet met conventionele technieken zijn aan te tonen maar vooral om een infectieziekte sneller aan te tonen en therapie te monitoren. Moderne technologieën worden gebruikt om kweekafhankelijke methoden te versnellen (Vitek, Phoenix). Toch blijft de diagnostische microbiologie te traag om in een vroeg stadium invloed te hebben bij de behandeling van een (vermeende) infectieziekte. De rol van de klinische microbiologie bij behandeling van infectieziekten in de eerste lijn en de polikliniek is heel beperkt. De introductie voor moleculair-biologische technieken verandert hier voorlopig niet veel in. Er is hier sprake van een 'therapy oriented setting'.¹ Snelle diagnostiek (op de dag van afname van het onderzoeksmateriaal), bijvoorbeeld bij luchtweginfecties, zou hier wenselijk zijn, maar dat kan de moleculaire biologie, ook op praktische gronden, niet bieden. Medisch microbiologisch onderzoek blijft hier zonder meer te traag.

Aan de andere kant is de moleculaire microbiologie in de kliniek niet meer weg te denken. Hier is een 'added-value setting'.

Moleculaire microbiologie is vooralsnog kiemgericht. Wij passen het toe bij de diagnostiek van *Mycobacterium tuberculosis*, *Chlamydia trachomatis*, *Tropheryma whippelii*, Herpes simplex-virus, *Bartonella henselae*, *Bordetella pertussis*, *Legionella pneumophila*, enterovirussen et cetera. Het gaat vandaag de dag in de klinische microbiologie dikwijls niet om een fenotype, maar om een genotype (MRSA, VRE, resistentiegenen, toxinegenen et cetera). Bij de pathogenese zijn genotypen belangrijker dan fenotypen. Ook in de epidemiologie kunnen we niet meer zonder genotypering. Menig niet-universitair medisch-microbiologisch laboratorium past moleculaire typeringstechnieken, zoals AFLP, toe in het kader van ziekenhuishygiëne en infectiepreventie. Moleculaire methoden die infectieproblematiek breder aanpakken, bijvoorbeeld multiplex-PCR bij respiratoire infecties of DNA-chiptechnologie, zijn in ontwikkeling ('moleculaire petrischaal').

Je bemerkt toch dat artsen-microbioloog moeite hebben met nucleïnezuurtechnologie. De grotere laboratoria trekken moleculair biologen aan met een natuurwetenschappelijke en geen medische achtergrond, om in de praktijk moleculair-biologische technieken uit te voeren of leiding te geven aan het uitvoeren daarvan door analisten. Conventionele bacteriologische, virologische en serologische technieken waren relatief eenvoudig, voor een arts gemakkelijk aan te leren en uit te voeren, de uitvoering te delegeren aan anderen en bij laboratoriumtechnische problemen deze op te lossen. Blijkbaar is het voor de artsen-microbioloog moeilijk de nieuwe nucleïnezuurtechnologie (afgezien van commerciële) zelfstandig in hun praktijk te introduceren.

Daarom is het goed dat de Nederlandse Vereniging voor Arts-assistenten in opleiding Medische Microbiologie (NVAMM) als onderwerp voor hun 8^e symposium op 15 februari 2001 hebben gekozen voor "Moleculaire diagnostiek: (on)begrensde mogelijkheden...", want artsen-microbioloog in opleiding moeten zich alle vaardigheden op het gebied van de moleculaire microbiologie eigen maken, anders verliezen ze controle over de diagnostische microbiologie aan technologie-georiënteerde laboratoria zonder belangstelling voor en kennis van infectieziektenproblematiek. Bij de opleiding tot arts-microbioloog zijn daarom moleculair biologen onmisbaar.

Literatuur

1. Van Eldere J. Models for change in clinical microbiology. Clin Microbiol Inf 2000;6:445-8.

Dr. M.F. Peeters, arts-microbioloog, voorzitter Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie, Streeklaboratorium voor de Volksgezondheid, St. Elisabeth Ziekenhuis, Postbus 747, 5000 AS Tilburg

Open vragen

Het Tijdschrift is behalve informatiedrager ook brenger van commerciële boodschappen in de vorm van advertenties. De redactie is er altijd moeiteloos in geslaagd de inhoud van het Tijdschrift zonder enige beïnvloeding te presenteren. Het plaatsen van advertenties heeft wel tot gevolg gehad dat het Tijdschrift tegen relatief lage kosten geproduceerd kan worden.

Er verandert iets aan dit fenomeen. Verschillende factoren dragen er toe bij dat de wens tot adverteren afneemt. De firma's die in het NTMM adverteren bewegen zich - het spreekt voor zich - voornamelijk op het terrein van antimicrobiële middelen. En, zoals bekend, het aantal nieuwe middelen dat de laatste jaren op de markt is gekomen is niet groot. Daarenboven hebben veel beleidmakers binnen onze lezersgroep niet snel de neiging met nieuwe middelen in zee te gaan. Het is zelfs eigen aan onze beroepsgroep om op dit punt terughoudend te zijn en dat op goede, epidemiologische gronden.

Bovendien is er in Nederland een discussie gaande over de regelgeving van het adverteren voor geneesmiddelen van de kant van de overheid. Weliswaar zijn antimicrobiële middelen in strikte zin geen geneesmiddelen - er worden micro-organismen bestreden die een rol spelen bij infecties, niet de patiënt zelf wordt behandeld - maar om die reden zal geen uitzondering worden gemaakt.

Een teruglopende acquisitie van advertenties leidt er in ieder geval toe dat de bekostiging van het Tijdschrift verandert. Het is niet uitgesloten dat de lezers in een of andere vorm hiermee geconfronteerd worden. En dan doet zich een belangrijke vraag voor.

Is men en zijn wij met zijn allen bereid het Tijdschrift voort te laten bestaan? Willen de lezers een periodiek verschijnend forum in gedrukte vorm behouden? Is de meerderheid tevreden met het Tijdschrift zoals het er nu uitziet, qua vorm zowel als inhoud?

Er leven zoveel vragen bij de redactie dat is besloten een lezersenquête te organiseren. Nu zit niemand verlegen om het invullen van welk formulier dan ook. Toch hebben we besloten dit initiatief door te laten gaan; het is tenslotte zeven jaar geleden dat de eerste en tot nu toe enige enquête werd gehouden.¹ Een vriendelijke manier om dat te doen lijkt ons het laten invullen van een kort vragenformulier bij gelegenheid van de voorjaarsvergadering van de NV(M)M op 26 maart, waar de meesten van de lezers gewoon zijn heen te gaan. Bij aankomst wordt het formulier uitgereikt en hopelijk kunt u het na invulling direct inleveren. We vertrouwen op een goede respons. Bovenstaande geeft u hopelijk al wat stof tot nadenken.

Literatuur

1. Anoniem. Lezersenquête. Ned Tijdschr Med Microbiol 1994;3:2-3.

J.A. Kaan, hoofdredacteur, arts-microbioloog, Diakonessenhuis Utrecht, Medisch Microbiologisch Laboratorium, Postbus 80250, 3508 TG Utrecht

Dosering van aminoglycosiden bij pasgeborenen

E.V. UIJTENDAAL, A. FLEER

Doseeradviezen bij pasgeborenen zijn meestal gebaseerd op na te streven top- en dalpiegels en farmacokinetische gegevens. Eenmaaldaagse doseerschema's blijken voor de meeste aminoglycosiden goed toepasbaar te zijn. Bij de keuze van een juiste dosering is een korte therapieduur vaak mogelijk, waardoor het optreden van bijwerkingen kan worden voorkomen. In praktijk blijkt dat het niet altijd zinvol is om dal- en topspiegels te meten. In dit artikel wordt een richtlijn gegeven voor het doseren en het meten van spiegels voor verschillende aminoglycosiden.

Trefwoorden: aminoglycosiden, dosering, farmacokinetiek, neonaat

Al sinds het op de markt verschijnen van de aminoglycosiden is er discussie over de juiste wijze van doseren. Een optimum wordt gezocht tussen een maximale effectiviteit en een minimum aan toxiciteit.

Door veel onderzoek dat vooral eind jaren tachtig is gepubliceerd, is meer inzicht verkregen in het werkingsmechanisme van aminoglycosiden en over de relatie tussen de manier van doseren en het ontstaan van toxiciteit. De laatste jaren zijn er ook meer gegevens beschikbaar gekomen over het doseren van aminoglycosiden bij pasgeborenen. Eenvoudige doseerschema's blijken goed toepasbaar te zijn.

Effectiviteit en toxiciteit van aminoglycosiden; relatie met doseerschema's

Op basis van *in vitro* killing-curve-experimenten en proefdieronderzoek is op empirische gronden aannemelijk gemaakt dat de optimale behandeling kort en krachtig is. De volgende bevindingen ondersteunen deze hypothese. Ten eerste blijken hogere aminoglycosidenconcentraties *in vitro* te resulteren in een grotere bactericide activiteit.¹ Ten tweede is er *in vitro* sprake van een lang Post-Antibiotisch Effect (PAE), waardoor microbiële killing nog enige tijd doorgaat nadat de aminoglycosidenpiegel tot onder de Minimaal Remmende Concentratie (MRC) is gedaald.² Ten slotte wordt *in vitro* snel resistentie waargenomen. Deze zogenaamde 'adaptive resistance' is een tijdelijke resistentie die optreedt als een micro-organisme enige uren in contact is geweest met een aminoglycoside en verdwijnt na een enige uren durende aminoglycosidevrije periode.³

Daarnaast is meer inzicht verkregen over het optreden van bijwerkingen en vooral in de relatie tussen de verschillende doseerschema's en het optreden van nefrotoxiciteit. Zo is in onderzoeken met dieren gebleken dat de opname van gentamicine in de cortex van de nier gebonden is aan een maximumcapaciteit, waardoor de grootste cumulatie plaatsvindt bij een continue blootstelling.⁴ Een dergelijke relatie is voor de ototoxiciteit nooit gevonden. De kans op het optreden van ototoxiciteit lijkt eerder gerelateerd te zijn aan het langdurig gebruik van hoge doses aminoglycosiden, vooral wanneer deze worden gecombineerd met andere potentieel ototoxische geneesmiddelen.⁵

Zowel de concentratieafhankelijke bactericide werking als het mechanisme waarmee nefrotoxiciteit ontstaat, zijn redenen om te pleiten voor een doseerschema waarmee

hoge topspiegels worden bereikt en dat een voldoende lang interval heeft om 'adaptive resistance' en cumulatie in de nier te voorkomen.

Begin jaren negentig zijn verschillende onderzoeken bij volwassenen uitgevoerd naar de mogelijkheid om aminoglycosiden eenmaal daags te doseren. Deze studies toonden aan dat eenmaal daags doseren niet minder effectief en wellicht zelfs minder nefrotoxisch is dan meermaal daags doseren.^{6,7} De trend om aminoglycosiden eenmaal daags te doseren bij volwassenen en de eenvoud van dit schema hebben velen ertoe aangezet om dit regime toe te passen bij kinderen en pasgeborenen. Kinderen en pasgeborenen wijken echter af in hun farmacokinetische eigenschappen.⁸ Zelfs binnen de groep pasgeborenen worden populaties met verschillende farmacokinetische eigenschappen gevonden. Resultaten verkregen uit studies met volwassen patiënten zijn daarom moeilijk te extrapoleren naar kinderen en met name naar pasgeborenen.

Doseerregimes bij pasgeborenen

Het grote verdelingsvolume en de langzame renale klaring bij pasgeborenen, gevoegd bij de kennis met betrekking tot zowel het werkingsmechanisme als de nefrotoxiciteit, pleiten juist bij pasgeborenen tot een hogere dosering per kilogram lichaamsgewicht en een langer doseerinterval. Met een *in-vitro* model van pasgeborenen toonde Skopnik aan dat de bactericide activiteit van een eenmaal daagse dosering van 4 mg/kg gentamicine voor pathogene bacteriën met een lage MRC vergelijkbaar is met die van tweemaal daags 2 mg/kg. Het eenmaal daags schema bleek *in vitro* zelfs beter te zijn bij isolaten met een hoge MRC.⁹

Een doseeradvies kan echter pas worden vastgesteld indien bekend is welke serumconcentraties moeten worden nagestreefd. Indien wordt uitgegaan van een topspiegel/MRC-ratio van 10 en een MRC₉₀ van een gangbare verwekker als *Escherichia coli* van 1 mg/l, dan bedraagt de streefwaarde voor topspiegels 10 mg/l.¹⁰ Andere auteurs gaan echter uit van een topspiegel/MRC-ratio van 4 waarmee een topspiegel van 4 mg/l ook voldoende effectiviteit geeft.¹¹ De MRC's van de meest geïsoleerde Gram-negatieve bacteriën bij pasgeborenen liggen voor amikacine tussen de 2 en 4 mg/l. Als streefwaarde voor de topspiegels van amikacine wordt daarom vaak 10 tot 20 mg/l aangehouden.¹²

Tabel 1. Overzicht van farmacokinetische parameters en doseeradviezen voor pasgeborenen

AMINOGLYCOSIDE	LEEFTIJD	VD (L/KG)	CL (ML/MIN/KG)	T _{1/2} (UUR)	STREEFWAARDEN VOOR TOP- EN DALSPIEGELS (MG/L)	DOSEERADVIES	REFERENTIE
Amikacine	g.a. < 34 weken en p.n.a. < 1 week	0,57 ± 0,11	0,84 ± 0,28	8,42 ± 2,55	Top 10-20 en dal < 10	9 mg/kg 1 x per 12 uur	12
Netilmicine	g.a. < 34 weken	0,52 ± 0,09	0,45 ± 0,11	6,6 ± 2,9	Top > 6 en dal < 2	4,5 mg/kg 1 x per 24 uur	19
	g.a. 34-36 weken	0,46 ± 0,08	0,45 ± 0,08	6,7 ± 2,6			
	g.a. > 36 weken	0,41 ± 0,05	0,64 ± 0,24	4,6 ± 1,3			
Gentamicine	g.a. < 31 weken en p.n.a. < 1 week	0,59 ± 0,08	0,76 ± 0,21	8,88 ± 1,24	Top 4-10 en dal < 2	3,5 mg/kg 1 x per 24 uur	15
	g.a. < 31 weken en p.n.a. 1-4 weken					4,5 mg/kg 1 x per 24 uur	
	g.a. = 31-33 weken en p.n.a. < 1 week	0,61 ± 0,10	0,79 ± 0,13	8,79 ± 0,76		3,5 mg/kg 1 x per 24 uur	
	g.a. = 31-33 weken en p.n.a. 1-4 weken					4,5 mg/kg 1 x per 24 uur	
Gentamicine	g.a. = 34-37 weken en p.n.a. < 1 week	0,60 ± 0,08	1,0 ± 0,29	6,61 ± 1,87		3,5 mg/kg 1 x per 24 uur	
	g.a. = 34-37 weken en p.n.a. 1-4 weken					4,5 mg/kg 1 x per 24 uur	
Gentamicine	Pasgeborenen (prematuren en niet-prematuren)	–	–	–	Top 6-12 en dal < 2	4 mg/kg 1 x per 24 uur	20
Gentamicine	g.a. = 36 ± 5 weken	0,45 ± 0,11	0,78 ± 0,26	7,19 ± 2,64	Top 5-10 en dal < 2	3,5 mg/kg 1 x per 24 uur	16
Gentamicine	g.a. = 30,6 ± 0,86 weken	0,57 ± 0,03	–	10,2 ± 0,89	Top > 5 en dal < 2		17
	g.a. < 34 weken < 1 kg					4 mg/kg (oplaaddosis) 2,5 mg/kg 1 x per 24 uur (onderhoudsdosis)	
	g.a. < 34 weken en > 1 kg of g.a. > 35 weken					4 mg/kg (oplaaddosis) 2,5 mg/kg 1 x per 18 uur (onderhoudsdosis)	
Gentamicine	g.a. > 34 weken	0,57 ± 0,09	–	8,8 ± 1,4	Top 5-18 en dal < 1,5	5 mg/kg 1x per 24 uur (g.a. 35-41 weken en p.n.a. < 3 dagen)	18
Gentamicine	g.a. > 37 weken en > 2,5 kg				Top 5-12 en dal < 2	5 mg/kg (oplaaddosis) 4 mg/kg 1 x per 24 uur (onderhoudsdosis)	21
Tobramycine	g.a. < 23 weken				Top 5-10 en dal < 2	4 mg/kg 1 x per 48 uur	14
Tobramycine	g.a. 23-37 weken					4 mg/kg 1 x per 36 uur	
	g.a. > 37 weken					4 mg/kg 1 x per 24 uur	
Tobramycine	p.n.a. < 2 weken				Top > 4 en dal < 2	3,3 mg/kg 1 x per 24 uur	22

VD = verdelingsvolume
 CL = klaring
 t_{1/2} = halfwaardetijd
 g.a. = zwangerschapsduur
 p.n.a. = postnatale leeftijd

Over de na te streven waarden voor dalspiegels bestaat discussie. Om de kans op cumulatie van aminoglycosiden in de cortex van de nier zoveel mogelijk te voorkomen, is het noodzakelijk om de dalwaarde laag te houden. Voor het eenmaaldaagse doseerschema van gentamicine wordt daarom steeds vaker een dalwaarde aangehouden van lager dan 1 mg/l.¹³

Met betrekking tot het optreden van ototoxiciteit bij pasgeborenen bestaat onduidelijkheid over de relatie met de dosering. Het is niet bekend of de binnenoor-structuren van pasgeborenen even gevoelig zijn voor de toxische effecten als die van volwassenen, en of de penetratie in het binnenoor vergelijkbaar is. Verder dragen diverse factoren bij aan het ontstaan van gehoorschade bij pasgeborenen; het is dan ook vaak moeilijk om een relatie vast te stellen met uitsluitend het gebruik van aminoglycosiden.⁵

Door het ontbreken van een duidelijke relatie tussen dosering en effectiviteit enerzijds en tussen dosering en het optreden van toxiciteit anderzijds zijn doseeradviezen voor aminoglycosiden bij pasgeborenen vooral gebaseerd op theoretische top- en dalspiegels en op farmacokinetische onderzoeken. Een overzicht van de farmacokinetische parameters en de bijbehorende doseeradviezen is weergegeven in *tabel 1*.

Vanwege het grote distributievolume bij pasgeborenen adviseren sommige auteurs een extra oplaaddosis om snel een hoge topspiegel te bereiken. Andere auteurs adviseren voor alle pasgeborenen een vaste dosering per keer, maar laten de doseerfrequentie afhangen van de leeftijd. Van de auteurs die een vaste dosering adviseren vonden de Hoog et al. een relatie tussen de farmacokinetiek en de zwangerschapsduur.¹⁴ Vervelde et al. vonden alleen een relatie met de postnatale leeftijd.¹⁵ Een verklaring hiervoor werd vooral gezocht in de diverse fysiologische veranderingen die optreden in de eerste week na de geboorte als gevolg van aanpassing aan het extra-uteriene leven. Hoewel hoge topspiegels, vooral in het begin van de therapie, belangrijk zijn voor een snel bactericide effect, wordt om pragmatische redenen veelal gekozen voor een schema zonder oplaaddosis waarbij eenmaal per 24 uur wordt gedoseerd. Diverse onderzoeken hebben aangetoond dat dit doseerregime goed kan worden toegepast.¹⁶⁻¹⁸ Vanwege de grote individuele verschillen wordt in alle onderzoeken geadviseerd om vroeg in de behandeling gentamicine-top- en dalspiegels te bepalen, zodat de dosering zo nodig kan worden bijgesteld. Voor het aanpassen van de dosering aan de gemeten top- en dalspiegels kan gebruik worden gemaakt van computerprogramma's. Vervelde et al. maakten gebruik van de methode van Bayes binnen het computerprogramma MW/Pharm (versie 3.15^E, Medeware, Groningen) en vonden dat op basis van de dosering een goede voorspelling van de spiegels mogelijk was.¹⁵

Om de kans op het optreden van toxiciteit te beperken is het overigens raadzaam de duur van de therapie te beperken. Wanneer gentamicine wordt ingezet wegens zijn synergistische effect met dat van β -lactam-antibiotica, zoals vaak het geval is bij een infectie met een groep-B-streptokok en mogelijk

ook bij een coagulase-negatieve stafylokok, wordt zelfs geadviseerd de gentamicinetherapie na drie dagen te stoppen.¹⁵

Beschouwing

Het vaststellen van de optimale dosering en het optimale doseerinterval van aminoglycosiden bij pasgeborenen is voornamelijk gebaseerd op farmacokinetisch onderzoek. Hoewel sommige auteurs een doseerinterval voorstellen afhankelijk van de zwangerschapsduur, wordt om pragmatisch redenen vaak gekozen voor een eenmaaldaagse dosering. Voor gentamicine wordt geadviseerd om in de eerste week na de geboorte te starten met een dosering van eenmaal daags 3,5 mg/kg. Als een pasgeborene ouder is dan een week maar jonger dan een maand, kan worden gestart met een dosering van eenmaal daags 4,5 mg/kg. Deze doseringen geven over het algemeen een topspiegel groter dan 5 mg/l, hetgeen doorgaans wordt beschouwd als voldoende effectief voor het bestrijden van een infectie met *E. coli*.¹³ De farmacokinetische eigenschappen van tobramycine zijn vergelijkbaar met die van gentamicine, en ook de MRC's van de bij pasgeborenen vaak geïsoleerde micro-organismen zijn voor beide middelen vergelijkbaar (met uitzondering van *Pseudomonas aeruginosa*). Voor tobramycine kan daarom dezelfde doseringsrichtlijn worden aangehouden als voor gentamicine.

Wegens de grote individuele verschillen adviseren wij bij ernstig zieke kinderen, en bij een therapie waarvan wordt verwacht dat deze langer zal duren dan drie dagen, om in het begin van de behandeling zowel top- als dalspiegels te bepalen zodat de dosering tijdig kan worden bijgesteld. Het bepalen van bloedspiegels achten wij bij kortdurende therapieën niet zinvol: de therapie is immers al vaak gestopt voordat de dosering kan worden bijgesteld. Ook de kans op cumulatie is bij een dergelijke kortdurende therapie gering. De therapie met aminoglycosiden dient dus ook voor pasgeborenen kort en krachtig te zijn.

Summary

Advice for dose and dosage intervals for neonates is often based on target peak and trough levels and on pharmacokinetic data. For most of the aminoglycosides, once daily dosing schemes appear to be appropriate. With the right choice of dosage, a short duration of therapy is often possible and can help to avoid toxicity. In daily practice it is not always meaningful to determine trough and peak levels. In this article, possible dosage strategies and guidance for the measurement of serum levels are given for various aminoglycosides.

Mw. E.V. Uijtendaal, ziekenhuisapotheker, Divisie Apotheek, Universitair Medisch Centrum Utrecht, huispost D.00.218, Postbus 85500, 3508 GA Utrecht

Dr. A. Fleer, arts-microbioloog, Wilhelmina Kinderziekenhuis, huispost KC.02.069.1, Postbus 85090, 3508 GA Utrecht

Literatuur

1. Kapusnik JE, Hackbarth CJ, Chambers HF, Carpenter T, Sande MA. Single, large, daily dosing versus intermittent dosing of tobramycin for treating experimental pseudomonas pneumonia. *J Infect Dis* 1988;158:7-12.
2. Mac Arthur RFD, Lolans V, Zar FA, Jackson GG. Biphasic, concentration dependent and rate-limited, concentration independent bacterial killing by an aminoglycoside antibiotic. *J Infect Dis* 1984;155:778-9.
3. Daikos GL, Jackson GC, Lolans VT, Livermore DM. Adaptive resistance to aminoglycoside antibiotics from first exposure down regulation. *J Infect Dis* 1990;162:414-20.
4. Giuliano RA, Verpoten GA, DeBroe ME. The effect of dosing strategy on kidney cortical accumulation of aminoglycosides in rats. *Am J Kidney Dis* 1986;8:297-303.
5. Assael BM, Parini R, Rusconi F. Ototoxicity of aminoglycoside antibiotics in infants and children. *Ped Infect Dis* 1982;5:357-65.
6. Ali MZ, Goetz MB. A meta-analysis of the relative efficacy and toxicity of single daily dosing of aminoglycosides. *Clin Infect Dis* 1997;24:796-809.
7. Baily TC, Little JR, Littenberg B, Reichley RM, Dunagan WC. A meta-analysis of extended-interval dosing versus multiple daily dosing of aminoglycosides. *Clin Infect Dis* 1997;24:786-95.
8. Uijtendaal EV, Rademaker CMA, Schobben AFAM, Fleer A. Aminoglycosides once daily in children: the need for more evidence. *Rev Med Microbiol* 2000;11:87-99.
9. Skopnik H, Walraf R, Nies B, Tröster K, Heimann G. Pharmacokinetics and antibacterial activity of daily gentamicin. *Arch Dis Child* 1992;67:57-61.
10. McCormack JP, Jewsson PJ. A critical reevaluation of the 'therapeutic range' of aminoglycosides. *Clin Infect Dis* 1992;14:320-39.
11. Moore RD, Smith CR, Lietman PS. Risk factors for the development of auditory toxicity in patients receiving aminoglycosides. *J Infect Dis* 1984;149:23-30.
12. Kenyon CF, Knoppert DC, Lee SK, vandenBerge HM, Chance GH. Amikacin pharmacokinetics and suggested dosage modifications for the preterm infant. *Antimicrob Ag Chem* 1990;34:265-8.
13. de Hoog M, Mouton JW, van den Anker JN. Gentamicine bij pasgeborenen: eenmaal daags, ingezonden. *Ned Tijdschr Geneesk* 1998;26:1520-1.
14. de Hoog M, Schoenmaker RC, Mouton JW, van de Anker JN. Tobramycin population pharmacokinetics in neonates. *Clin Pharmacol Ther* 1997;62:392-9.
15. Vervelde ML, Rademaker CMA, Krediet TC, Fleer A, van Asten P, van Dijk A. Population pharmacokinetics of gentamicin in preterm neonates: Evaluation of a once daily regimen. *Ther Drug Monit* 1999;21:514-9.
16. Murphy JE, Austin ML, Frye RF. Evaluation of gentamicin pharmacokinetics and dosing protocols in 195 neonates. *Am J Health-Syst Pharm* 1998;55:2280-8.
17. Isemann BT, Kotagal UR, Mashni SM, Luckhaupt EJ, Johnson CJ. Optimal gentamicin therapy in preterm neonates includes loading doses and early monitoring. *Ther Drug Monit* 1996;18:549-55.
18. Hayani KC, Hatzopoulos FK, Frank AL, Thummala MR, Hantsch MJ, Schatz BM, John EG and Vidyasagar D. Pharmacokinetics of once daily dosing of gentamicin in neonates. *J Pediatr* 1997;131:76-80.
19. Ettlinger JJ, Bedford KA, Lovering AM, Reeves DS, Speidel BD, MacGowan AP. Pharmacokinetics of once-a-day netilmicin (6 mg/kg) in neonates. *Br Soc Antimicrob Chemother* 1996;38:499-505.
20. Kaspers GJL, Teunissen PC, Holl H. Gentamicinedosering bij pasgeborenen: eenmaal daags. *Ned Tijdschr Geneesk* 1998;142:583-6.
21. Lundergan FS, Glasscock GF, Kim EH, Cohen RS. Once-daily gentamicine dosing in newborn infants. *Pediatrics* 1999;103:1228-32.
22. Eitelberger F, Hohenauer L, Sommer R. Dosage and dosage interval of tobramycin in the newborn. *Br J Clin Pract; suppl* 57:49-54.

Acute keelpijn in de huisartspraktijk: invloed van streptokokken, van penicilline en van patiëntkenmerken

S. ZWART, G.J.H.M. RUIJS

Bij 690 patiënten (leeftijd 4 tot 60 jaar) met acute keelpijn in de huisartspraktijk en bij 694 gezonde controlepersonen werden keeluitstrijken afgenomen en geanalyseerd volgens de meest recente inzichten. Bij de volwassen patiënten (15 tot 60 jaar) werden de effecten van een driedaagse en een zevendaagse penicillinekuur geanalyseerd ten opzichte van placebo. Uit het case-control-onderzoek bleek dat bij volwassenen niet alleen groep-A-, maar ook groep-C- en groep-G-beta-hemolytische streptokokken (BHS) in hoge groeidichtheid geassocieerd waren met het hebben van keelpijn.

Het penicilline-interventieonderzoek liet zien dat een zevendaagse – en niet een driedaagse – penicillinekuur de keelpijn 1,0 tot 2,5 dagen sneller doet verdwijnen, ook bij patiënten met niet-groep-A-BHS. Regressieanalyse leverde drie voorspellers op van een vertraagd of een gecompliceerd beloop, onafhankelijk van het effect van penicilline: een 'hoge' leeftijd, veel beperkingen van dagelijkse activiteiten op dag 1, en een negatieve kweekuitslag. Voor de groep-A-streptokokken-positieve patiënten bleken bacteriologische karakteristieken (hoge groeidichtheid, T-serotypering en M- en exotoxine genotypering) geen voorspeller van een slecht beloop.

Om optimale resultaten te kunnen boeken bij de microbiologische diagnostiek bevelen de auteurs het gebruik van twee afzonderlijk afgenomen keeluitstrijken aan in plaats van één (13 procent meeropbrengst aan streptokokken in hoge groeidichtheid) alsmede de inzet van meer dan één voedingsbodem en anaërobe incubatie gedurende tweemaal 24 uur.

Trefwoorden: Groep-A-streptokok, huisarts, *S. pyogenes*, tonsillitis

Acute keelpijn is een luchtweginfectie die de huisarts gemiddeld eens per week ziet. De prognose is zelden ongunstig; zowel virale als bacteriële infecties genezen spontaan, gemiddeld na een week. Na adequate diagnostiek is uitleg over het te verwachten beloop bij de meeste patiënten voldoende.¹ Een recent Cochrane-overzichtsartikel stelde dat beta-hemolytische streptokokken (BHS) slechts in een gering aantal gevallen een rol spelen en dat zelfs bij streptokokken-tonsillitis penicilline de klachten hooguit een halve dag eerder doet verdwijnen.² Desalniettemin schrijven huisartsen bij 78 procent van de acute tonsillitiden antibiotica voor. De laatste 15 jaar is een tendens tot verkorting van de penicillinekuur waarneembaar, van tien via zeven naar vijf dagen.³

In dit onderzoek was onze eerste vraag of penicilline invloed had op het beloop van keelpijn en, zo ja, of een driedaagse kuur even effectief was als een zevendaagse. Bij andere luchtweginfecties, zoals acute otitis media en sinusitis maxillaris, bleken geen significante verschillen tussen beide regimes te bestaan.^{4,5}

De tweede onderzoeksvraag was of er in de algemene huisartspopulatie naast *S. pyogenes* (β -hemolytische groep-A-streptokok) ook andere Lancefield-serogroepen pathogeen zijn bij acute keelpijn. Tevens waren we geïnteresseerd of mogelijke kenmerken van virulentie, zoals *T1M1*- en *T3M3*-subtypes en exotoxine-A- en exotoxine-C-genen⁶, bij de β -hemolytische groep-A-streptokok een slecht beloop van de keelpijnepisode voorspelden.

Ten slotte vroegen we ons af welke klinische en psychosociale factoren de prognose het meest beïnvloedden.

Patiënten en methodes

Tussen herfst 1994 en voorjaar 1996 includeerden 55 huisartsen in de regio Zwolle alle patiënten die acute keelpijn als hoofdklacht presenteerden in het onderzoek. Bovendien werden in leeftijd overeenkomende 'gezonde' controlepersonen in dezelfde huisartspraktijken geselecteerd voor twee keeluitstrijken. Deze personen mochten in de drie voorafgaande maanden geen keelontsteking of andere mogelijk door streptokokken veroorzaakte infecties hebben doorgemaakt, en gedurende de laatste twee weken geen antibiotica hebben gebruikt.⁷

Protocol dag 1

De keelpijnpatiënten werden geïncludeerd als ze voldeden aan minstens twee (kinderen van 4 tot 14 jaar) of drie (volwassenen tussen 15 en 60 jaar) van de vier zogeheten Centor-criteria: koorts, afwezigheid van hoest, exsudaat op de tonsillen(-nissen) en pijnlijke voorste halsklieren.⁸ Deze criteria verhogen bij volwassenen de kans op aanwezigheid van groep-A-streptokokken van ongeveer 20 tot 50 procent. Ze worden als diagnostisch hulpmiddel besproken in de NHG-standaard Acute Keelpijn.¹ De overige anamnestiche gegevens werden geïnventariseerd (duur van de huidige episode, eerder keelpijn gehad, ooit een tonsillectomie ondergaan, bekend met diabetes mellitus of astma/COPD), naast demografische factoren en het heersende seizoen. De huisarts verrichtte twee keeluitstrijken voor kweek en verstrekte een dagboek alsmede een doos met medicatie voor zeven dagen. Patiënten werden gerandomiseerd over drie

behandelgroepen: (1) zeven dagen feneticilline, (2) drie dagen feneticilline gevolgd door vier dagen placebo en, respectievelijk, (3) zeven dagen placebo. Kinderen tot 10 jaar kregen 3 dd 250 mg p.o., de overigen 3 dd 500 mg p.o.

Vervolgperiode van twee weken

Van dag 1 tot en met dag 7 registreerden de patiënten in het dagboek de hoeveelheid pijn en beperkingen in het dagelijks leven op een 5-puntsschaal, de lichaamstemperatuur, eventuele bijwerkingen van feneticilline en het aantal gebruikte pijnstillers.

In de tweede week vulden de patiënten, of, in geval het kinderen betrof de ouders, twee vragenlijsten in die gevalideerd zijn voor zelfredzaamheid⁹ en voor de beheersingsoriëntatie. Deze laatste, de 'locus-of-control', geeft aan in hoeverre de patiënt zijn of haar gezondheidsstatus toeschrijft aan interne (eigen aandeel) of externe (dokter, toeval) factoren.¹⁰ Na twee weken kwam de patiënt terug bij de arts, die opnieuw keeluitstrijken afnam voor kweek.

Bacteriologie

Huisartsen werden vooraf getraind in het lege artis afnemen van een keeluitstrijk. Deze keeluitstrijk werd per persoon tweemaal achtereenvolgend op identieke wijze uitgevoerd, omdat hierdoor de opbrengst aan BHS significant (met 7 tot 30 procent) toeneemt.¹¹ De keelwatten werden verzonden in een gemodificeerd Stuart-medium en binnen 48 uur verwerkt op het Laboratorium voor Medische Microbiologie en Infectieziekten te Zwolle. Elke keelwat werd uitgestreken op een schapenbloedagar en een selectieve ssA-agar (Becton Dickinson, Leiden). Hierbij werd de öse enkele malen diep in de agar gestoken om detectie van beta-hemolyse te optimaliseren. De agarplaten werden anaëroob geïncubeerd bij 35 °C gedurende 24 tot 48 uur en dagelijks beoordeeld op beta-hemolytische kolonies. Van alle katalase-negatieve, Gram-positieve kokken in ketens werd de serogroep bepaald met Streptex (Murex, Utrecht). Tevens werd de gevoeligheid voor bacitracine bepaald.

De groeiendichtheid van de BHS op beide agarplaten werd als volgt semi-kwantitatief gescoord: geen groei, sporadische groei (1 tot 10 kolonies), 1+ of lage groeiendichtheid (meer dan 10 kolonies, echter beperkt tot het eerste kwadrant), 2+ of matige groeiendichtheid en 3+ of hoge groeiendichtheid (kolonievorming tot het tweede, respectievelijk derde kwadrant). Tevens werd een semi-kwantitatieve analyse uitgevoerd van de commensale keelflora teneinde een indruk te krijgen van de uitstrijktechniek van de huisartsen.

De BHS werden opgeslagen bij -85 °C. Groep-A-stammen werden op het RIVM te Bilthoven onderworpen aan T-serotypering en M- en exotoxine genotypering.¹²

Analyse van de gegevens

Case-control

Voor het case-control-onderzoek werden de kweekresultaten van de patiënten en de controles, afzonderlijk voor de leeftijdsgroepen 4 tot en met 14 jaar en 15 tot en met 44 jaar, geanalyseerd door middel van logistische regressie met correctie voor mogelijk storende variabelen, zoals leeftijd, status na tonsillectomie en seizoen. De resultaten werden uitgedrukt in Odds Ratios.

Effectiviteit van penicilline

Verschillen tussen de behandelgroepen in de duur van de keelpijn en duur van de beperkingen (in dagen) werden berekend met de Kaplan-Meier-survivalanalyse en de Wilcoxon- (Gehan-)toets.

Determinanten van een slecht beloop

Voor de prognostische studies werden twee eindpunten gecreëerd: (1) het persisteren van keelpijn of ernstige beperkingen tot op dag 5, en (2) uitval uit het onderzoek wegens klinische verslechtering, bijvoorbeeld een (dreigend) abces. Een bivariate Cox-regressieanalyse werd uitgevoerd om een associatie te meten tussen mogelijke klinische en psychosociale determinanten enerzijds en een slecht beloop van de keelpijn-episode anderzijds. Alle variabelen die een P-waarde gelijk aan of lager dan 0,20 toonden werden geïncubeerd in een multivariate analyse en stapsgewijs werd de variabele met de hoogste P-waarde geëlimineerd tot alle overgebleven variabelen een P-waarde gelijk aan of lager dan 0,05 toonden. Een separate bivariate regressieanalyse werd uitgevoerd voor de vier bacteriologische karakteristieken in de groep-A-BHS-positieve patiënten: (1) 3+ groeiendichtheid (versus minder dan 3+ groeiendichtheid of geen groei), (2) *T1M1* en *T3M3* (versus de overige subtypes), (3) *speA* exotoxine-gen (aanwezig versus afwezig), en (4) *speC* exotoxine-gen (aanwezig versus afwezig).¹³

Resultaten

Van de 1.391 patiënten met acute keelpijn werden er 449 (32 procent) geëxcludeerd, en 252 (18 procent) patiënten wezen deelname af. Van de 449 geëxcludeerde patiënten voldeden er 279 niet aan het minimaal vereiste aantal insluitcriteria, bij 89 was er sprake van een contra-indicatie voor penicilline en de 81 overigen hadden andere redenen. In totaal deden aldus 690 patiënten mee aan het penicilline-interventieonderzoek, en dus ook aan de prognostische studie. Van deze 690 patiënten waren er 561 vijftien jaar of ouder. De effecten van penicilline voor deze leeftijdsgroep werden separaat beschreven.¹⁴

Case-control

Van de 700 personen die werden gevraagd als controle te dienen, deden 694 mee. Van de 184 gezonde kinderen bleken er 56 (30,4 procent) drager van groep-A-BHS; van de 510 volwassenen waren er 33 (6,5 procent) drager.

Van de 690 keelpijnpatiënten vielen er 663 binnen de leeftijdscategorie 4 tot en met 44 jaar.

Uit de vergelijking tussen deze 'controls' en 'cases' bleken hoge kiemgetallen van niet-groep A-BHS geassocieerd te zijn met het hebben van keelpijn bij volwassenen (Odds Ratio 3,7; 95 procent betrouwbaarheidsinterval 2,3-6,0). Om die reden herhaalden we de analyse voor alle patiënten met als afkappunt de groeiendichtheid tussen 2+ en 3+ (Tabel 1). Hier zien we dat niet alleen groep-A- maar ook hoge kiemgetallen van groep-C- en groep-G-BHS een significante associatie hadden met ziekte, *in casu* het hebben van keelpijn. Deze tendens, hoewel niet significant, was ook zichtbaar bij groep-B- en groep-F-BHS.

Bacteriologische diagnostiek

Het absolute percentage BHS-positieve kweken bij patiënten werd 3 procent hoger als met twee in plaats van met één wattenstok werd uitgestreken en er per wattenstok een kweek met de twee beschreven media werd ingezet, en 13

Tabel 1. Prevalentie van in hoge groeidichtheid aangetroffen beta-hemolytische streptokokken (3+ BHS) in keelpijnpatiënten en in asymptomatische controlepersonen, per leeftijdsgroep.

BHS-SEROGROEP 3+ KWEEK	KINDEREN 4-14 JAAR					
	PATIËNTEN		CONTROLES		OR ^a	(95% BI)
	N	(%)	N	(%)		
Groep A	76	(58,9)	19	(10,3)	12,3	(6,6-22,0)*
Groep B	0	(0,0)	0	(0,0)	-	
Groep C	5	(3,9)	3	(1,6)	1,8	(0,4-7,8)
Groep F	1	(0,8)	1	(0,5)	2,1	(0,1-35,2)
Groep G	3	(2,3)	5	(2,7)	0,7	(0,2-3,4)
Niet typeerbaar	2	(1,6)	0	(0,0)	-	
Geen / weinig groei ^b	42	(32,6)	156	(84,8)	-	
Totaal	129	(100,0)	184	(100,0)	-	

BHS-SEROGROEP 3+ KWEEK	VOLWASSENEN 15-44 JAAR					
	PATIËNTEN		CONTROLES		OR ^a	(95% BI)
	N	(%)	N	(%)		
Groep A	243	(45,5)	6	(1,2)	71,7	(30,8-165,7)*
Groep B	21	(3,9)	9	(1,8)	1,7	(0,7-4,1)
Groep C	51	(9,6)	10	(2,0)	3,9	(1,9-8,1)*
Groep F	7	(1,3)	1	(0,2)	4,7	(0,5-42,9)
Groep G	26	(4,9)	4	(0,8)	7,5	(2,4-23,3)*
Niet typeerbaar	3	(0,6)	3	(0,6)	0,8	(0,1-4,8)
Geen / weinig groei ^b	183	(34,3)	477	(93,5)	-	
Totaal	534	(100,0)	510	(100,0)	-	

a OR = odds ratio, gecorrigeerd voor seizoen en tonsillectomie in anamnese
95% BI = 95% betrouwbaarheidsinterval

b geen groei van BHS of BHS met een groeidichtheid < 3+

* significant verschil ($P \leq 0,05$) tussen patiënten en controles

procent hoger als het ging om de kweken met hoge groeidichtheid.

Bij 99 procent van alle voor groep-A-streptokokken positieve kweken was er groei op zowel de schapenbloedagar- als de ssA-plaat. Van alle niet-groep-A-positieve kweken toonde 52 procent alleen groei op de schapenbloedagar-, en 2 procent alleen op de ssA-agarplaat.⁷

Effectiviteit van penicilline

Analyse van alle 561 volwassen keelpijnpatiënten toonde een grotere uitval wegens klinische verslechtering in de placebogroep (23/177= 13 procent) dan in de drie- en zevendaagse penicillinegroep (8/171= 5 procent, respectievelijk 4/174= 2 procent). Alledrie de peritonsillaire abscessen ontwikkelden zich in de placebogroep.

In de zevendaagse penicillinegroep waren de patiënten gemiddeld na 3,6 dagen beter, in de overige twee behandelgroepen bijna twee dagen later. Tevens bleek het gebruik van pijnstillers significant minder in de zevendaagse penicillinegroep. Tabel 2 laat zien dat het effect van penicilline groot is bij de patiënten met een keelweek die positief bleek voor BHS, inclusief diegenen met een hoge groeidichtheid van groep-C- en groep-G-streptokokken. Na zeven dagen penicillinebehandeling bleken groep-A-BHS bij 72 procent van de patiënten geëradiceerd, groep-C- en groep-G-BHS bij 40 procent respectievelijk 88 procent van de patiënten. De eradicatie van groep-A-BHS bleek na de driedaagse behandeling en na placebo significant lager dan na de zevendaagse kuur (41 procent respectievelijk 7 procent).

Determinanten van een slecht beloop

Onafhankelijk van penicillinebehandeling bleken 'hoge' leeftijd (boven versus onder de mediaan, ook voor de afzonderlijke subgroepen kinderen en volwassenen), veel beperkingen in het dagelijks leven op dag 1 en een kweekuitslag negatief voor hoge groeidichtheden van groep-A-, groep-C- of groep-G-BHS, significante voorspellers te zijn van een slecht beloop van de keelpijnepisode (Tabel 3). Uit nadere analyse bleek dat zelfredzame patiënten meer pijn en beperkingen hadden op dag 1 dan de minder zelfredzamen.

Voor de groep-A-BHS-positieve patiënten bleken de vier bacteriologische karakteristieken, die mogelijk met virulentie geassocieerd zouden zijn (hoge groeidichtheid, T-serotyping en M- en exotoxine genotyping) niet geassocieerd met een slecht beloop van de keelpijnepisode (Tabel 4).

Discussie

Bij de keelpijnpatiënten in de huisartspraktijk, die geselecteerd waren op grond van klinische criteria, konden frequent (79 procent) BHS aangetroffen worden. Bij de volwassenen bleken ook niet-groep-A-BHS, mits in hoge groeidichtheid aangetroffen, significant geassocieerd met keelpijn. Het waarschijnlijk causale karakter van de associatie werd bevestigd door de bevinding dat penicilline de keelpijnepisode significant bekortte bij patiënten met bovenstaande kweekuitslag. Bij de volwassen patiënten positief voor groep-A-BHS bleek een zevendaagse penicillinekuur de keelpijnepisode met tweeënhalf dag te bekorten (vergeleken met

Tabel 2. Verkorting van de mediane duur van de keelpijn bij volwassenen, in dagen. Paarsgewijze vergelijking^a van de zevendaagse penicillinebehandeling met de driedaagse en de nuldaagse penicillinebehandeling, per kweekuitslag (beta-hemolytische streptokokken (BHS), en de groei dichtheid).

KWEKUITSLAG	GROEIDICHTHEID	PATIËNTEN (N)	7 DG PENICILLINE VERSUS:	
			3 DG PENICILLINE DAGEN	0 DG PENICILLINE DAGEN
Alle patiënten		561	1,9*	1,7*
Groep-A-BHS	3+	254	2,5*	2,5*
	< 3+	26	2,5	2,4
Niet-groep-A-BHS	3+	111	1,5*	1,1*
	< 3+	51	0,8	0,8
Negatief		119	0,3	0,9

^a Wilcoxon- (Gehan-)analyse

* Significant verschil ($P \leq 0,05$) van de zevendaagse penicillinekuur ten opzichte van de driedaagse respectievelijk nuldaagse duur van de penicillinekuur

Tabel 3. Factoren die een vertraagd of gecompliceerd beloop voorspelden voor 690 keelpijnpatiënten bij inclusie in het onderzoek. Resultaat van multipole regressieanalyse van 24 potentieel voorspellende factoren.

	HR ^a	(95% BI)	P-WAARDE
Leeftijd	1,01	(1,00-1,02)	0,006
Beperkte dagelijkse activiteiten (graad 4-5)	1,32	(1,06-1,64)	0,01
Groep-A-, -C- of -G-BHS (3+) in keelweke	0,80	(0,65-1,00)	0,05

^a HR = hazard ratio

95% BI = 95% betrouwbaarheidsinterval

Tabel 4. Karakteristieken van *Streptococcus pyogenes* en hun associatie met een vertraagd of gecompliceerd beloop van een keelpijnepisode bij 367 *S. pyogenes*-positieve patiënten.

S. PYOGENES-KARAKTERISTIEKEN	VERTRAAGD BELOOP		S. PYOGENES-COMPLICATIE	
	OR ^a	(95% BI)	OR ^b	(95% BI)
Hoge groei dichtheid (3+)	0,59	(0,27-1,28)	2,63	(0,31-22,64)
T1M1 / T3M3	1,72	(0,65-4,53)	3,67	(0,54-25,09)
<i>Spe A</i> exotoxine-gen	0,52	(0,26-1,03)	0,32	(0,07-1,43)
<i>Spe C</i> exotoxine-gen	1,19	(0,70-2,00)	1,82	(0,69-4,78)

a Odds ratio, gecorrigeerd voor type behandeling, leeftijd, en hoeveelheid pijn bij inclusie (de 31 patiënten met een complicatie werden uitgesloten)

b Odds ratio, gecorrigeerd voor type behandeling, leeftijd, en aantal huisgenoten (de 135 patiënten met een vertraagd beloop werden uitgesloten)

een driedaagse kuur of met placebo). Dit effect bleek groter dan uit de literatuur bekend was. Kenmerken van de groep-A-streptokokken, die zouden kunnen wijzen op virulentie, bleken niet geassocieerd te zijn met een vertraagd herstel of het ontstaan van complicaties. In de totale groep keelpijnpatiënten duurden de klachten langer bij een negatieve dan bij een positieve kweekuitslag voor BHS.

Selectie van patiënten

De patiënten werden geselecteerd op grond van klinische criteria, conform de praktijk in de Nederlandse eerste lijn. De praktijksituatie kon echter niet volledig worden gesimuleerd in de onderzoeksopzet, omdat sommige patiënten niet deelnamen die wel voldeden aan de insluitcriteria. Waarschijnlijk waren zij zieker dan degenen die wel participeerden, omdat een groter deel van hen voldeed aan alle vier klinische criteria. Helaas was er geen mogelijkheid ook bij deze patiënten de keel uit te strijken.

Hoge opbrengst aan BHS

Andere studies naar de prevalentie van BHS bij zieken en gezonden in de eerste lijn vonden lagere cijfers.^{15,16} Naast de verschillen in epidemiologische context zorgden de volgende factoren onzes inziens voor de hoge prevalentie cijfers: 1) effectieve selectie van 'zieke' keelpijnpatiënten op basis van vier klinische criteria,⁸ 2) training van de huisartsen in adequate strijktechniek, 3) afname van twee keelwatten in plaats van één,¹¹ en 4) optimale combinatie van laboratoriumtechnieken (gebruik van selectieve en niet-selectieve agar, de öse diep in de agar steken, anaërobe incubatie tot 48 uur). Combinatie van methodes, zoals wij die toepasten, is later ook geadviseerd om de diagnostische opbrengst te verbeteren.¹⁷

Duur van de kuur

De zevendaagse penicillinekuur bekortte ten opzichte van de driedaagse en placebo-behandeling de duur van de klachten (na contact met de huisarts) met bijna twee dagen, van circa 5,4 tot 3,6 dagen. Mogelijke factoren die aan dit omgekeerd grote effect van penicilline ten grondslag liggen zijn: selectie van keelpijnpatiënten, steekproefgrootte en methodologie (keuze van effectmaten en van analyse).

De driedaagse penicillinekuur had geen voordelen ten opzichte van placebo, behalve dat zich geen keelabcessen ontwikkelden. Mogelijk zijn de eerste drie dagen van een penicillinekuur al voldoende om een purulente complicatie, zoals een abces, te voorkomen.

Een tiendaagse kuur, nog steeds wereldwijd geadviseerd door de WHO, wordt in Nederland alleen gegeven bij risicopatiënten (immuuncompromitteerd, Down-syndroom, epidemie in gesloten gemeenschap).¹¹

Niet-groep-A-streptokokken: pathogeen?

Tot nu toe zijn alleen in semi-gesloten gemeenschappen, zoals op de campus van Amerikaanse universiteiten, epidemieën van keelinfecties waargenomen met keelkweken positief voor niet-groep-A-BHS.^{18,19} Voor zover ons bekend vonden wij als eersten aanwijzingen voor een associatie van niet-groep-A-BHS en keelpijn in een endemische setting. Daarbij pleit het geconstateerde effect van penicillinebehandeling bij groep-C- en groep-G-BHS-positieve volwassenen met acute keelpijn inderdaad voor een causaal karakter van de associatie.

Groep-A-streptokokken: virulentiefactoren

Kenmerken van virulentie, zoals gevonden bij groep-A-BHS die werden geïsoleerd bij invasieve streptokokkenziekte, bleken geen voorspeller te zijn van een slecht beloop van de keelpijn-episode. Klaarblijkelijk zijn bij keelpijnpatiënten gastheerfactoren van grotere invloed dan de gemeten microbiële factoren. Desalniettemin zijn deze microbiële factoren wel frequent aangetroffen bij keelpijnpatiënten in populaties waar een epidemie van invasieve streptokokkenziekte optrad.^{20,21}

Streptokokken afwezig: trager herstel

Tot onze verrassing bleek kolonisatie met groep-A-, groep-C- en groep-G-BHS in hoge groeidichtheid de keelpijn-episode te bekorten, onafhankelijk van de invloed van penicilline. Het zou kunnen zijn dat bij de door klinische criteria geselecteerde keelpijnpatiënten virale infecties een langer beloop hebben dan bacteriële. In de literatuur vonden we slechts één diagnostische en één prognostische studie die onze veronderstelling ondersteunden.^{22,23}

Conclusies en aanbevelingen

Hoewel ons onderzoek er niet op ontworpen was, lijken de hoge isolatiepercentages BHS in de patiëntengroep het toepassen van de Centor-criteria volgens de NHG-standaard Acute Keelpijn te ondersteunen. Indien nadere bacteriologische diagnostiek gewenst is bij een keelpijnpatiënt, zouden niet één maar twee keeluitstrijken afgenomen moeten worden. Het loont tevens om de kweektechniek te optimaliseren door gebruik van verschillende voedingsbodems en anaërobe incubatie. Het is van belang om de keeluitstrijken semi-kwantitatief in te zetten en te rapporteren, zowel voor groep-A- als niet-groep-A-BHS. Deze laatste hebben immers, naar het zich laat aanzien, pathogene betekenis indien ze in hoge groeidichtheid voorkomen bij volwassenen.

Dat houdt ook in dat diagnostiek met sneltests op keeluitstrijken, zoals een Strep-A-test, tekortschiet in het aantonen van niet-groep-A-BHS. De sensitiviteit van zo'n test zal dus nog lager zijn dan de tot nu toe gevonden waarden van 60 tot 80 procent.²⁴

De studie laat zien dat door een zevendaagse penicillinekuur de ziekteduur van een met Centor-criteria geselecteerde volwassen keelpijnpatiënt met bijna twee dagen wordt bekort. Tevens blijkt penicilline abcesvorming te voorkomen. Wat hiervan de betekenis is voor de dagelijkse praktijk hangt af van hoe de balans in de spreekkamer zal uitslaan tussen de wens van de huisarts terughoudend te zijn met het gebruik van antimicrobiële middelen bij een 'self-limiting' infectie en de wens van de patiënt snel van z'n klachten af te zijn.²⁵ En ... als ú nou de patiënt was, wat zou u zelf doen?

Summary

Throat swabs were taken from 690 patients (4 to 60 years old) presenting with an acute sore throat in general practice and from 694 healthy controls. The swabs were cultured according to the latest recommendations. Furthermore, the effects of a three-day and a seven-day penicillin regimen were compared with placebo treatment.

The case-control study showed that in adults not only group A, but also high-colony-count group C and group G beta-hemolytic streptococci were associated with sore throat.

The randomized controlled trial showed that the seven-day, and not the three-day penicillin regimen caused an acceleration of symptom resolution by 1.0 up to 2.5 days. This also applied to patients with non-group A beta-hemolytic streptococci.

From the regression analyses three predictors of a delayed or complicated course of sore throat were found, independently from the effect of penicillin: 'high' age, seriously impaired daily activities at day 1, and a negative throat culture. Bacteriological markers of group A streptococci (high colony counts, T serotyping, M genotyping and exotoxin typing) did not predict a worse sore throat episode.

To reach optimal microbiological results the authors recommend using two, independently sampled throat swabs in stead of one (a 13 percent higher yield of high-colony-count streptococci), as well as the use of more than a single agar plate and anaerobic incubation for two times 24 hours.

Dr. S. Zwart, huisarts te Kampen, tevens medewerker Julius Centrum voor Huisartsgeneeskunde en Patiëntgebonden Onderzoek, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Postbus 85500, 3508 GA Utrecht

Dr. G.J.H.M. Ruijs, arts-microbioloog, Laboratorium voor Medische Microbiologie en Infectieziekten, Isala Klinieken, Rhijnvis Feithlaan 62, 8021 AM Zwolle

Dankbetuiging

Het beschreven onderzoek is gefinancierd door Groene Land Achmea Verzekeringen en de Stichting Gezondheidszorg-onderzoek IJsselmond te Zwolle. Onze dank gaat ook uit naar het RIVM in Bilthoven.

Dit artikel is een beknopte weergave van de meest relevante aspecten van de dissertatie 'Sore throat, streptococci, and penicillin' van Sjoerd Zwart, die in 1999 promoveerde aan de universiteit van Utrecht.

Literatuur

1. Dagnelie CF, Zwart S, Balder FA, Romeijnders ACM, Geijer RMM. NHG-standaard Acute Keelpijn (eerste herziening). Huisarts Wet 1999;42:271-8.
2. Del Mar CB, Glasziou PP, Spinks AB. Antibiotics for sore throat. In: The Cochrane Library. Issue 2. Oxford: Update software, 2000.
3. De Melker RA, Kuyvenhoven MM. Management of upper respiratory tract infection in Dutch general practice. Br J Gen Pract 1991;41:504-7.
4. Kozyrskij AL, Hildes-Ripstein E, Longstaffe SEA, et al. Treatment of acute otitis media with a shortened course of antibiotics. A meta-analysis. JAMA 1998;279:1736-42.
5. Williams JW, Holleman DR, Samsa GP, Simel DL. Randomized controlled trial of 3 vs 10 days of trimethoprim/sulfamethoxazole for acute maxillary sinusitis. JAMA 1995;273:1015-21.
6. Schellekens JFP, Schouls LM, van Pelt W, Esveld M, van Leeuwen WJ. Group A streptococci: A change in virulence? Neth J Med 1998;52:209-17.
7. Zwart S, Ruijs GJHM, Sachs APE, van Leeuwen WJ, Gubbels JW, de Melker RA. Beta-haemolytic streptococci isolated from acute sore-throat patients: cause or coincidence? A case-control study in general practice. Scand J Infect Dis 2000;32:377-84.
8. Centor RM, Witherspoon JM, Dalton HP, Brody ChE, Link K. The diagnosis of strep throat in adults in the emergency room. Med Decis Making 1981;1:239-46.
9. Van de Kar AGA, Knottnerus JA, Meertens RM, Dubois V, Kok GJ. Why do patients consult the general practitioner? Determinants of their decision. Br J Gen Pract 1992;42:313-6.
10. Halfens RJG. Locus of control. Beheersingsoriëntatie in relatie tot ziekte- en gezondheidsgedrag (proefschrift). Maastricht, Universiteit Maastricht, 1985.
11. Kellogg JA, Manzanella JP. Detection of group A streptococci in the laboratory or physician's office. JAMA 1986;255:2638-42.
12. Schouls L, Blokpoel MCJ, Elzenaar KJ, et al. Genotyping of M- and exotoxin genes in the surveillance of group A streptococcal infection in The Netherlands. Bilthoven: RIVM Annual Scientific Report 1992:155-7.
13. Zwart S, Ruijs GJHM, de Melker RA, Sachs APE, Schellekens JFP. Delayed recovery and complications in patients with group A streptococcal pharyngitis: the role of markers of streptococcal virulence [Abstract]. American Society for Microbiology: 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. San Francisco, USA, 1999: 715.
14. Zwart S, Sachs APE, Ruijs GJHM, Gubbels JW, Hoes AW, de Melker RA. Penicillin for acute sore throat: randomised double blind trial of seven days versus three days treatment or placebo in adults. BMJ 2000;320:150-4.
15. Cimolai N, Morrison BJ, MacCulloch L, Smith DF, Hlady J. Beta-hemolytic non-group A streptococci and pharyngitis: a case-control study. Eur J Pediatr 1991;150:776-9.
16. Gunnarsson RK, Holm SE, Söderström M. The prevalence of beta-haemolytic streptococci in throat specimens from healthy children and adults. Implications for the clinical value of throat cultures. Scand J Prim Health Care 1997;15:149-55.
17. Ruoff KL, Whaley RA, Beighton D. Streptococcus. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenoer FC, Tenover RH, eds. Manual of clinical microbiology, 7th ed. Washington: ASM Press 1999:283-96.
18. Cimolai N, Elford RW, Bryan L, Anand C, Berger P. Do the beta-hemolytic non-group A streptococci cause pharyngitis? Rev Infect Dis 1988;10:587-601.
19. Turner JC, Hayden FG, Lobo MC, Ramirez CE, Murren D. Epidemiologic evidence for Lancefield group C beta-hemolytic streptococci as a cause of exudative pharyngitis in college students. J Clin Microbiol 1997;35:1-4.
20. Cockeril FR, MacDonald KM, Thompson RL, et al. An outbreak of invasive group A streptococcal disease associated with high carriage rates of the invasive clone in school-aged children. JAMA 1997;277:38-43.
21. Kiska DL, Thiede B, Caracciolo B, et al. Invasive group A streptococcal infections in North Carolina: Epidemiology, clinical features, and genetics and serotype analysis of causative organisms. J Infect Dis 1997;176:992-1000.
22. Hjortdahl P, Melbye H. Does near-to-patient testing contribute to the diagnosis of streptococcal diagnosis in adults? Scand J Prim Health Care 1994;12:70-6.
23. Little P, Gould C, Williamson I, Warner G, Gantley M, Kinmonth AL. Clinical and psychosocial predictors of illness duration from randomised controlled trial of prescribing strategies for sore throat. BMJ 1999;319:736-7.
24. Dagnelie CF, Bartelink ML, van der Graaf Y, Goessens W, de Melker RA. Towards a better diagnosis of throat infections (with group A beta-haemolytic streptococcus) in general practice. Br J Gen Pract 1998;48:959-62.
25. Butler CC, Rollnick S, Pill R, Maggs-Rapport F, Stott N. Understanding the culture of prescribing: qualitative study of general practitioners' and patients' perceptions of antibiotics for sore throats. BMJ 1998;317:637-42.

De waarde van bronchoalveolaire lavagecytologie bij de diagnose van beademingspneumonie

J.A. JACOBS

Cytologie van bronchoalveolaire lavage (BAL) is behulpzaam bij de evaluatie van patiënten verdacht van beademingspneumonie. Het totale celaantal wordt bepaald in een Fuchs-Rosenthal telkamer. Gecytocentrifugeerde preparaten worden gekleurd volgens May-Grünwald Giemsa en de differentiële celtelling wordt uitgevoerd op 500 kernhoudende cellen. De differentiële celtelling van BAL-vloeistof bij gezonde personen omvat alveolaire macrofagen (80 tot 90 procent), lymfocyten (5 tot 10 procent), polymorfonucleaire neutrofielen (PMN, 1 tot 2 procent), eosinofielen en mestcellen (1 tot 2 procent). In BAL-vloeistof kunnen er daarnaast nog mond- en bronchusepitheelcellen voorkomen, en - alleen in pathologische omstandigheden - reactieve type-II-pneumocyten en plasmacellen. Verder wordt ook het aantal cellen met gefagocyteerde micro-organismen (geïnfecteerde cellen) als een percentage van 500 gedifferentieerde cellen gekwantificeerd.

BAL-vloeistofmonsters zijn technisch niet representatief bij een totaal celaantal van minder dan 60.000 per ml, en niet geschikt voor kwantitatieve kweek bij een percentage mond- of bronchusepitheelcellen van 1 of meer procent. Een percentage PMN van minder dan 50 procent biedt een krachtig argument ter uitsluiting van beademingspneumonie, terwijl een aantal geïnfecteerde cellen van 2 of meer procent sterk pleit voor de diagnose beademingspneumonie. De aanwezigheid van geactiveerde lymfocyten, plasmacellen, meer dan 5 procent eosinofielen, reactieve type-II-pneumocyten en een groot aantal schuimmacrofagen wijst in de richting van een alternatieve diagnose zoals een interstitiële of medicamenteuze longaandoening, ARDS of aspiratie van maaginhoud.

Trefwoorden: bronchoalveolaire lavage, beademingspneumonie, cytologie

Door middel van bronchoalveolaire lavage (BAL) worden cellen en vloeistof uit de lagere luchtwegen verkregen. Kwantitatieve kweek van BAL-vloeistof verhoogt de specificiteit van de diagnose beademingspneumonie (ventilator-associated pneumonia, VAP), en uitgebreid prospectief onderzoek toonde aan dat implementatie van BAL zowel de mortaliteit als het antibioticagebruik bij verdenking op VAP reduceert.¹ Het duurt echter 24 tot 48 uur voordat de uitslag van de kweek bekend is, en wij stelden recent vast dat kwantitatieve kweek door middel van gekalibreerde entogen onvoldoende reproduceerbaar en accuraat is.² Om deze redenen zijn wij ons gaan toelagen op de cytologie van de BAL-vloeistof, ervan uitgaande dat hierdoor de diagnose van VAP versneld en verfijnd zou kunnen worden.

In dit artikel worden de procedures voor het verwerken van de BAL-vloeistof beschreven, zoals die in ons laboratorium worden uitgevoerd. Deze technische procedures zijn gebaseerd op eerdere rapporten^{3,4} en gevalideerd en aangepast aan onze eigen behoefte en ervaring.⁵ De klinische relevantie van de cytologie voor de diagnose van VAP wordt besproken.

Bronchoscopie met afname van bronchoalveolaire lavagevloeistof

Bronchoscopie met BAL wordt uitgevoerd in het aangetaste segment. Na het positioneren van de bronchoscoop wordt

een fysiologische zoutoplossing geïnjecteerd door het biopsiekanaal, in vier opeenvolgende fracties van elk 50 ml, die na injectie onmiddellijk weer worden opgezogen. De fracties worden ieder afzonderlijk opgevangen in polypropyleen containers die in volgorde van opvang worden genummerd.

Volume, aspect, totaal celaantal

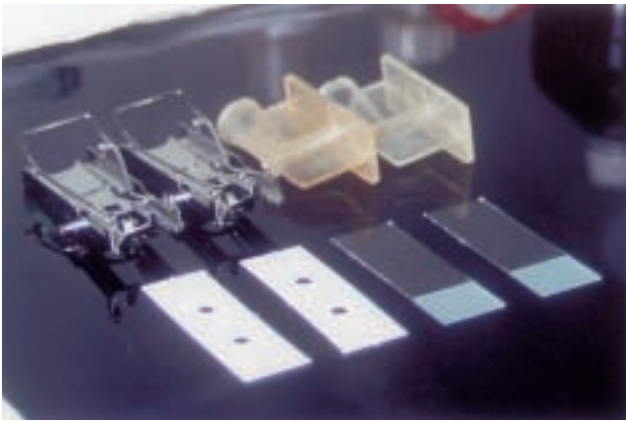
Alle handelingen worden uitgevoerd in een veiligheidskabinet. Het volume en het macroscopisch aspect van de opgevangen BAL-vloeistof worden genoteerd. De eerste fractie bevat hoofdzakelijk materiaal uit de bronchus en wordt daarom apart gehouden voor detectie van *Mycobacterium tuberculosis*. De overige fracties worden samengevoegd tot een zogenaamde mengfractie, van waaruit verder onderzoek wordt verricht.

Het totaal celaantal wordt bepaald in een Fuchs-Rosenthal-telkamer. Alle kernhoudende cellen worden geteld en het gemiddelde van twee opeenvolgende tellingen wordt genoteerd als het aantal cellen per ml. Bij normale BAL-vloeistofmonsters bedraagt het totale celaantal 150.000 tot 300.000 cellen per ml, dit aantal is verhoogd bij rokers.^{1,2}

Cytocentrifugatie

De preparaten voor microscopie worden gemaakt door cytocentrifugatie. Dit gebeurt op ons laboratorium met het Shandon Cytospin 3-apparaat (Shandon scientific Ltd., Astmoor,

Figuur 1. Samenstelling cytospinset: metalen cytoclip, monsterkamer, filter en objectglaasje.



England). Iedere cytospinset bestaat uit een conische monsterkamer (de cytospinkamer), een filter en een objectglaasje, bij elkaar gehouden door een metalen cytoclip (Figuur 1). Tijdens de cytocentrifugatie worden de cellen door de centrifugatiekracht geprojecteerd op het objectglaasje terwijl de resterende celvrije vloeistof door capillairkracht wordt geabsorbeerd in het filter. De cellen spreiden zich op het objectglaasje in een enkelvoudige cellaag van 6 mm doorsnede, de zogenaamde cytocentrifuge-spot. Cytocentrifugatie verlaagt de drempel van microscopische detectie van micro-organismen met 2 log in vergelijking met conventionele preparaten.⁶ Daarnaast behoudt cytocentrifugatie beter de morfologie van micro-organismen en gastheercellen waardoor het herkennen van intracellulaire bacteriën mogelijk wordt. Ten slotte kleuren gecytocentrifugeerde preparaten gelijkmatig aan, en hoeft de microscopist slechts een klein oppervlak te bekijken.

De kwaliteit van de preparaten hangt af van de keuze van de cytocentrifugatieparameters en van de celdichtheid. De beginner heeft de neiging een te groot volume BAL-vloeistof in de cytospinkamer te brengen, wat aanleiding geeft tot overlapping van de cellen met daardoor verlies aan diagnostische waarde. Voor het verkrijgen van een goed te beoordelen monolaag is het daarom van groot belang het volume BAL-vloeistof per cytospinkamer af te stemmen op het totale cel-aantal (Tabel 1). Tijd, snelheid en versnelling zijn de cytocentrifugatieparameters die aangepast kunnen worden.

Tabel 1. Aanbevelingen voor cytocentrifugatie van BAL-vloeistofmonsters

BAL-VLOEISTOF TOTAAL CELAANTAL/ML	VOLUME (µL) PER CYTOSPINKAMER	INSTELLINGEN SHANDON CYTOSPIN 3
< 50.000	300	Lage versnelling, 650 rpm (x 40 g), 20 min
50 - 100.000	200 - 250	Lage versnelling, 650 rpm (x 40 g), 10 min
100.000 - 200.000	150 - 200	Lage versnelling, 650 rpm (x 40 g), 10 min
200.000 - 300.000	150	Lage versnelling, 650 rpm (x 40 g), 10 min
300.000 - 400.000	100 - 150	Lage versnelling, 650 rpm (x 40 g), 10 min
> 500.000	Verdun in gebufferde zoutoplossing tot 200 µl eindvolume	Lage versnelling, 650 rpm (x 40 g), 10 min
Bloedige BAL-vloeistof	Volume 50 µl minder dan vermeld voor niet-bloedig monster	Lage versnelling, 650 rpm (x 40 g), 10 min

Voor een optimale opbrengst van heel kleine objecten zoals bacteriën wordt de maximumsnelheid aanbevolen (2.000 revolutions per minute (rpm), overeenkomend met een g-waarde van x 300).⁶ Deze hoge snelheid beschadigt echter grotere en kwetsbare cellen, vandaar dat wij en anderen de lage versnelling en een matige snelheid (650 rpm, x 40 g) verkiezen.^{2,3} Omdat de kleuringen worden verricht op aan de lucht gedroogde preparaten centrifugerend wij gedurende tien minuten, waardoor de celvrije vloeistof volledig door het filter wordt geabsorbeerd.

May-Grünwald Giemsa-kleuring

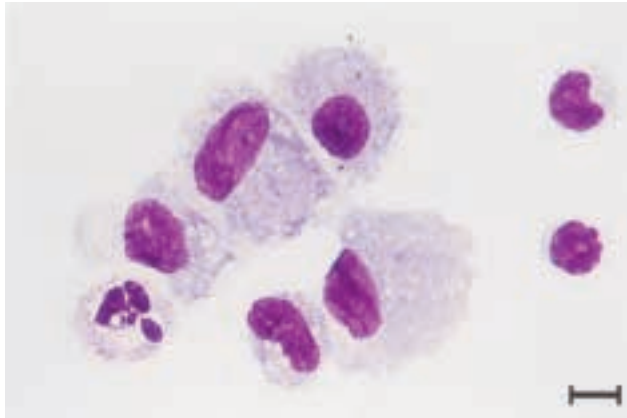
Om verschillende redenen gaat onze voorkeur uit naar de May-Grünwald Giemsa-kleuring (MGG-kleuring). Weliswaar zijn bij de MGG-kleuring maligne cellen en virusgeïnfecteerde cellen moeilijker te herkennen dan bij de Papanicolaou-kleuring, maar de MGG-kleuring is zeer geschikt voor het identificeren van witte bloedcellen en macrofagen, en ook extracellulair materiaal zoals mucus wordt duidelijk gekleurd. Verder is de MGG-kleuring technisch eenvoudig en zijn de meeste microbiologische laboratoria reeds vertrouwd met de enkelvoudige Giemsa-kleuring vanuit de parasitologische diagnostiek.

De MGG-kleuring wordt uitgevoerd volgens de klassieke versie⁷, met uitzondering van de bufferoplossing, die pH 7,2 in plaats van pH 6,8 heeft, conform aan de procedure bij de detectie van bloedparasieten. Het is belangrijk de werkoplossingen vers klaar te maken (houdbaarheid 24 uur) en tussen de kleurstappen energiek te spoelen met buffer. Na het drogen worden de gekleurde preparaten afgesloten met een dekglasje en xyleen-vrij hars (Histomount, Shandon). Deze procedure garandeert een lange houdbaarheid en voorkomt bovendien ontkleuring door bepaalde types immersie-olie.

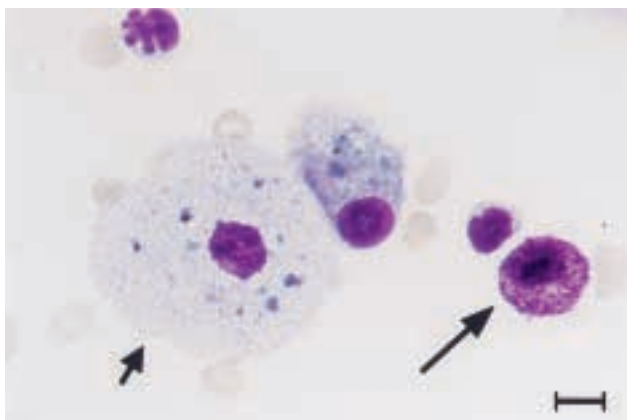
Cellen in de BAL-vloeistof

De cellen in de BAL-vloeistof van gezonde personen bestaan uit alveolaire macrofagen (80 tot 90 procent van alle kernhoudende cellen), lymfocyten (5 tot 10 procent), polymorfonucleaire neutrofielen (1 tot 2 procent), eosinofielen en mestcellen (1 tot 2 procent). Bij rokers kunnen het aantal polymorfonucleaire neutrofielen en het aantal macrofagen verhoogd zijn.¹

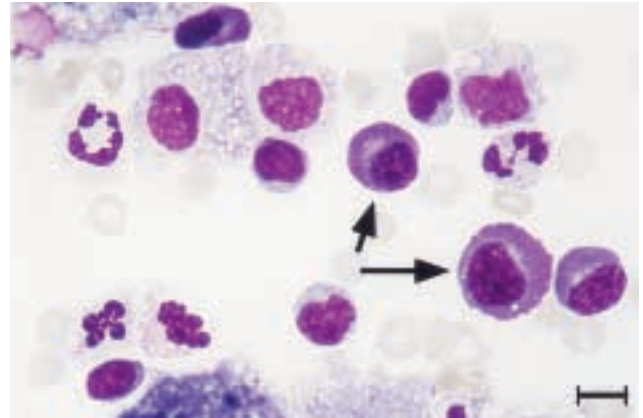
Figuur 2. Gecytocentrifugeerde BAL-vloeistof, MGG-kleuring, lijnstuk komt overeen met 10 μm . Polymorfonucleaire neutrofiel (links), alveolaire macrofagen en twee lymfocyten.



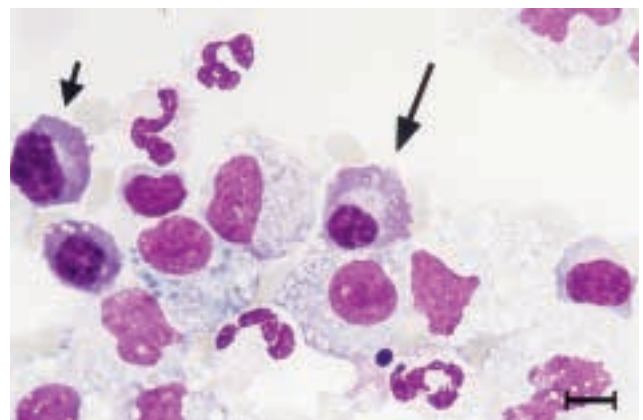
Figuur 3. Gecytocentrifugeerde BAL-vloeistof, MGG-kleuring, lijnstuk komt overeen met 10 μm . Van links naar rechts: alveolaire schuimmacrofaag (korte pijl), alveolaire macrofaag, lymfocyt en mestcel (lange pijl).



Figuur 4. Gecytocentrifugeerde BAL-vloeistof, MGG-kleuring, lijnstuk komt overeen met 10 μm . De pijl duidt geactiveerde lymfocyten aan.



Figuur 5. Gecytocentrifugeerde BAL-vloeistof, MGG-kleuring, lijnstuk komt overeen met 10 μm . De korte pijl wijst naar een geactiveerde lymfocyt, de lange pijl naar een plasmacel.



Alveolaire macrofagen zijn mononucleaire cellen met een doorsnede van 10 tot 40 μm (Figuur 2). Hun cytoplasma is licht van kleur, ruim, en kan gefagociteerd materiaal bevatten zoals koolstofdeeltjes, celresten of debris. De kern is rond tot ovaal. Af en toe komen multinucleaire macrofagen voor, maar deze zijn niet met specifieke infecties of ontstekingsprocessen geassocieerd. Het kernchromatine is granulaar tot reticulair, af en toe zijn er nucleolen te zien. Schuimmacrofagen vertonen een heldere vacuolisering over het gehele cytoplasma-oppervlak (Figuur 3). Als blauw-groene granules of bruinachtige insluitels in de macrofagen aanwezig zijn, dan wordt een Perls-kleuring uitgevoerd voor visualisatie van hemosiderine, een hemoglobine-afbraakproduct. De ijzerhoudende korrels worden in deze kleuring homogeen licht- tot donkerblauw gekleurd. Een aantal hemosiderinebeladen macrofagen dat 20 procent van het aantal macrofagen overschrijdt is indicatief voor alveolaire bloeding⁸, die bij patiënten op de intensieve zorg kan optreden bij onder meer trombocytopenie, hartdecompensatie en longcontusie.

Polymorfonucleaire neutrofielen (PMN) hebben een doorsnee van 12 tot 15 μm , een onregelmatige kern met 2 tot 5 lobben, en een kleurloos cytoplasma dat gevuld is met kleine granules die roze tot rood kleuren (Figuur 2). De eosinofielen hebben een typische tweelobbe kern en grote, helder oranje granules. De mestcellen in BAL-vloeistof zijn groter dan de basofielen in het bloed. Hun cytoplasma is gevuld met kleine, paars-rode granules waardoor de ovale, centraal gelegen kern vaak niet goed is te onderscheiden (Figuur 3).

De kleinste kernhoudende cellen in de BAL-vloeistof zijn de lymfocyten (Figuur 2). Zij hebben een hoge kern/cytoplasma-verhouding. De vorm van de kern is rond tot cerebriform, met een dens blauw-paars kernchromatine. Een excentrisch randje blauw cytoplasma bevat een enkele maal enkele rode granules. Geactiveerde lymfocyten lijken, morfologisch gezien, heel veel op de 'atypische lymfocyten' die men aantreft in bloedfilmpjes van patiënten met virusinfecties. Zij zijn groter dan rijpe lymfocyten en hebben een overvloediger, intens blauw cytoplasma dat soms vacuolen bevat. De kern is vergroot en soms uitgestrekt in de lengte van de cel. Het kernchromatine is dens en doet denken aan dat van een plasmacel (Figuren 4 en 5). Plasmacellen komen slechts uitzonderlijk voor in BAL-vloeistof (Figuur 5). Hun doorsnede varieert van 8 tot 20 μm . De kern is rond tot ovaal, ligt vaak excentrisch, en vertoont dichte brokjes kernchromatine zonder nucleolen. Het cytoplasma kleurt sterk basofiel met een heldere zone om de kern heen.

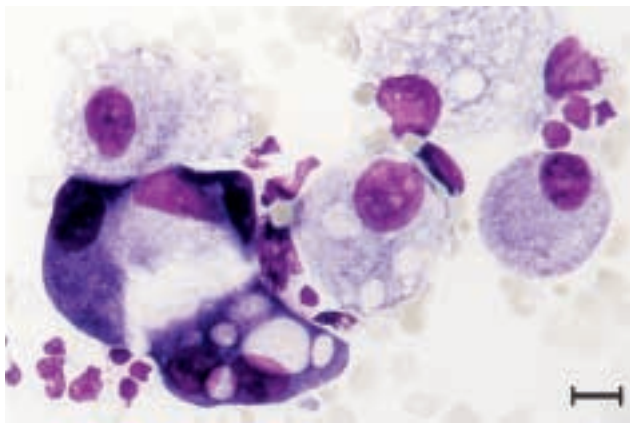
Type-II-pneumocyten bekleden de alveoli en komen bij gezonde personen niet voor in de BAL-vloeistof. Reactieve type-II-pneumocyten komen typisch voor in groepjes en zijn soms te zien in de BAL-vloeistofmonsters van patiënten met het 'Adult Respiratory Distress Syndrome' (ARDS), of bij medicament-geïnduceerde longafwijkingen.⁹ Het zijn grote cellen met een hoge kern/cytoplasma-verhouding, en grote ronde tot ovale kernen. Het cytoplasma is dieper blauw dan dat van de alveolaire macrofagen en kan sterk gevacuoliseerd zijn, waardoor deze cellen het aspect van maligne cellen kunnen vertonen (Figuur 6).

Epitheelcellen kunnen eveneens in BAL-vloeistof voorkomen. Trilhaarcellen en slijmbekercellen zijn bronchiale epitheelcellen waarvan de eerstgenoemde het meest talrijk zijn. Trilhaarcellen zijn zuilvormig en hebben een basaal gelegen kern, een lichtgekleurd cytoplasma met een duidelijke eindplaat en een bos trilhaartjes (Figuur 7). Het kernchromatine is reticulair, en soms zijn er twee nucleolen te zien. Slijmbekercellen zijn eveneens lichtgekleurd en langgerekt, en hebben een basaal gelegen kern. Het slijm heeft een rode kleur in MGG-gekleurde preparaten. Mondepitheelcellen zijn grote, platte cellen die losliggend of in groepjes voorkomen. Hun kernen zijn relatief klein en rond, en het chromatine kan heel dens zijn. Het cytoplasma is bleek- tot donkerblauw en de celrand is scherp omlind (Figuur 8).

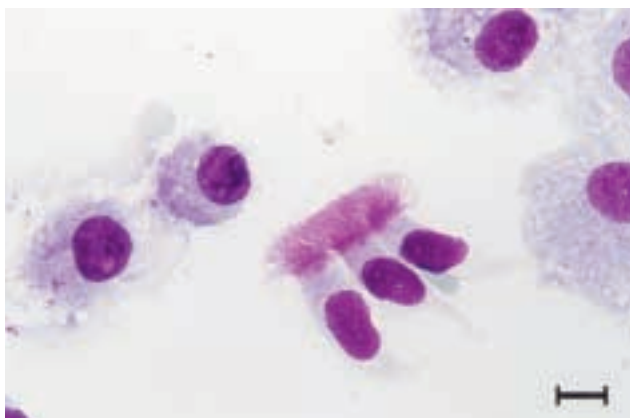
Microscopie

Gecytocentrifugeerde BAL-vloeistofpreparaten worden eerst met een kleine vergroting (10 x objectief, vergroting 100 x) beoordeeld op de aanwezigheid van schuimig exudaat (wat kan duiden op een *Pneumocystis carinii*-pneumonie, Figuur 9), en op onregelmatig verspreide groepjes epitheelcellen die bij de sterke vergroting misschien over het hoofd worden gezien. Vervolgens worden de preparaten bekeken met het 100 x olie-immersie-objectief (vergroting 1.000 x), vanuit het midden van de cytocentrifugespot in een cirkelvormig patroon naar buiten toe. De differentiële telling wordt uitgevoerd op 500 opeenvolgende kernhoudende cellen, met uit-

Figuur 6. Gecytocentrifugeerde BAL-vloeistof, MGG-kleuring, lijnstuk komt overeen met 10 µm. Alveolaire macrofagen met een groepje reactieve type-II-pneumocyten in de linkerbenedenhoek.



Figuur 7. Gecytocentrifugeerde BAL-vloeistof, MGG-kleuring, lijnstuk komt overeen met 10 µm. Alveolaire macrofagen met een triplet van trilhaarcellen.



zondering van de epitheelcellen en de type-II-pneumocyten. Aantallen van alveolaire macrofagen, PMN, eosinofielen, mestcellen, lymfocyten en plasmacellen worden elk gerapporteerd als een percentage van dat 500-celaantal. Cellen die micro-organismen bevatten (geïnfecteerde cellen) worden ook geteld in MGG-gekleurde preparaten (Figuur 10).¹⁰ Hoewel zowel macrofagen als PMN fagocyten, zijn het in praktijk vooral de PMN die intracellulaire organismen bevatten. De geïnfecteerde cellen worden gekwantificeerd als een percentage van de getelde hoeveelheid van 500 cellen. Mond- en bronchusepitheelcellen worden afzonderlijk geteld en hun aantal per 500 cellen wordt gerapporteerd. Opmerkelijke morfologische bevindingen, zoals de aanwezigheid van reactieve type-II-pneumocyten, schuimmacrophagen en geactiveerde lymfocyten, worden eveneens vermeld.

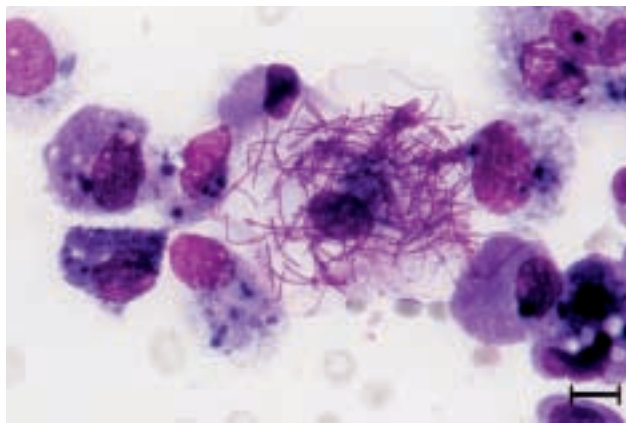
De diagnostische waarde van de BAL-vloeistofcytologie voor de diagnose van VAP

Bij de verdenking VAP biedt het cytologisch onderzoek van BAL-vloeistof criteria voor beoordeling van de kwaliteit van het monster, en verschaft het waardevolle argumenten voor de diagnose van VAP of voor een alternatieve diagnose.

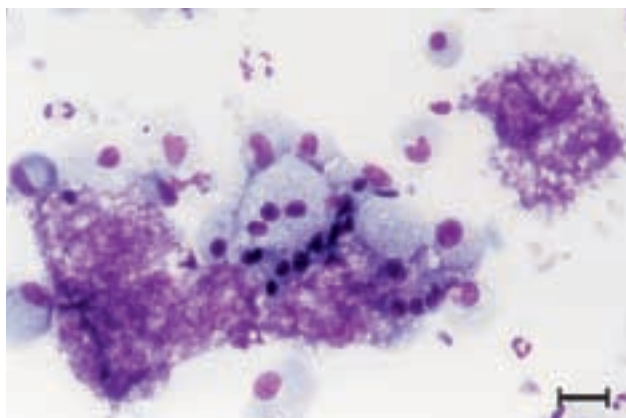
- Beoordeling van de kwaliteit van BAL-vloeistof

De aanwezigheid van mondepitheelcellen wijst op contaminatie met orofaryngeale flora, en de meeste auteurs zijn van oordeel dat BAL-vloeistofmonsters met 1 of meer procent mond-

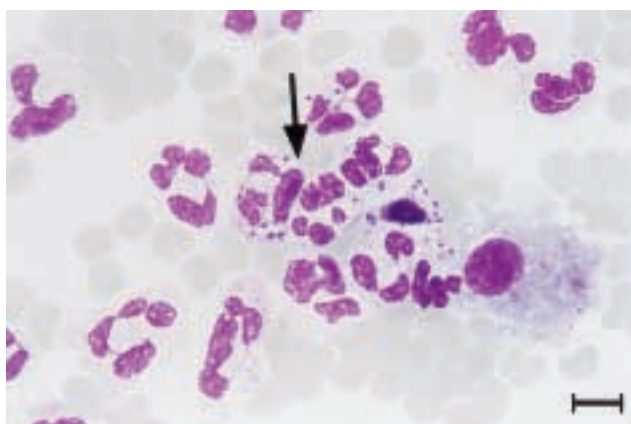
Figuur 8. Gecytocentrifugeerde BAL-vloeistof, MGG-kleuring, lijnstuk komt overeen met 10 µm. Puinbeladen alveolaire macrofagen met centraal een mondepitheelcel beladen met talrijke bacteriën.



Figuur 9. Gecytocentrifugeerde BAL-vloeistof, MGG-kleuring, lijnstuk komt overeen met 25 µm. Alveolaire macrofagen, met daartussen een schuimig exudaat met *P. carinii*-cysten.



Figuur 10. Gecytocentrifugeerde BAL-vloeistof, MGG-kleuring. Intracellulaire kokken zijn herkenbaar in de polymorfonucleaire neutrofielen.



epitheelcellen (of, in onze rapportage: met vijf of meer mondepitheelcellen op 500 cellen gedifferentieerd) geen waarde hebben voor een kwantitatieve kweek.^{11,12} Wij verwerken dergelijke monsters altijd, maar wijzen daarbij op de mogelijkheid van een contaminatie vanuit de mond- of keelholte. Verscheidene malen troffen wij mondepitheelcellen aan bij aspiratiepneumonie en een enkele keer was de aanwezigheid van mondepitheelcellen toe te schrijven aan een lekkende endotracheale tube, mede waardoor een VAP kon ontstaan. Bronchusepitheelcellen zijn een indicatie voor een bronchiale contaminatie. Aantallen van respectievelijk meer dan 5 procent en meer dan 1 procent zijn als rejectie-criterium voor kwantitatieve kweek voorgesteld.^{12,13} Vele beademde patiënten hebben tracheobronchitis en de bronchusepitheelcellen worden gauw over het hoofd gezien als ze beschadigd zijn of niet gelijkmatig verspreid liggen over de cytocentrifuge-spot. Wij geven daarom de voorkeur aan het meer stringente criterium van meer dan 1 procent bronchusepitheelcellen als indicatie voor een bronchiale besmetting. Wij verwerken deze BAL-vloeistofmonsters wel, maar beschouwen ze als endotracheale aspiraten waarvoor de conventionele kweek een goede diagnostische sensitiviteit biedt (ten koste van een lage specificiteit) met een redelijke kans de verantwoordelijke pathogeen te identificeren. Ervaring heeft ons geleerd dat zelfs BAL-vloeistofmonsters die ogenschijnlijk alleen bronchiaal materiaal bevatten toch diagnostische waarde hebben omdat soms strikt pathogene micro-organismen zoals *M. tuberculosis* en *P. carinii* kunnen worden aangetoond.

- BAL-vloeistofcytologie en de voorspellende waarde voor VAP

De BAL-vloeistofcytologische parameters die zijn bestudeerd als indicatoren voor VAP zijn het totale celaantal, het percentage PMN en het percentage geïnfecteerde cellen.

Het totaal celaantal in BAL-vloeistof is significant hoger bij patiënten met VAP vergeleken met niet-geïnfecteerde patiënten.^{14,15} Er blijft echter een ruime overlap tussen beide groepen bestaan, hetgeen een diagnostische scheiding uitsluit. Het totale celaantal in de BAL-vloeistof hangt bovendien af van technische factoren bij het uitvoeren van de bronchoscopie, en zowel wij als anderen¹⁶ gebruiken deze parameter aldus als een extra kwaliteitscontrole, waarbij een BAL-monster met een laag totaal celaantal (minder dan 60.000 cellen per ml) wordt beschouwd als een niet-representatief monster.

Uit de meeste studies blijkt verder dat het percentage PMN in de BAL-vloeistof van patiënten met VAP significant hoger is dan bij patiënten zonder pneumonie.^{15,17,18} Een poging om deze informatie om te zetten in een discriminerende test was echter niet succesvol, omdat er geen geschikte drempelwaarde kon worden gedefinieerd.¹³ Het aantal PMN neemt verder ook toe bij inflammatoire longprocessen die niet altijd infectieus van aard zijn, zoals in een vroeg stadium van ARDS.¹⁸ Wij zijn daarom van mening dat het percentage PMN veeleer een negatief voorspellende waarde heeft, waarbij een laag aantal PMN (of, complementair, een hoog aantal macrofagen) een krachtig argument betekent voor het uitsluiten van VAP. Dit is duidelijk aangetoond door Kirtland en medewerkers die vaststelden dat, uitgaande van histologische criteria, een percentage van minder dan 50 procent PMN een 100 procent uitsluiting gaf van VAP.¹⁹

Er worden ook veel vaker geïnfecteerde cellen aangetroffen in BAL-vloeistofmonsters van patiënten met VAP dan bij patiënten zonder VAP. De drempelwaarden voor geïnfecteerde cellen zoals gemeld in de literatuur variëren van 2 procent¹⁵ tot 25 procent²⁰. Deze verschillen zijn toe te schrijven aan de aard van de patiëntenpopulatie, de gebruikte kleuringen en de celtypes die werden geteld. Deze drempelwaarden combineerden verder een hoge specificiteit met een lage sensitiviteit. Bij de meeste onderzoeken werd echter gebruik gemaakt van kwantitatieve BAL-vloeistofkweek als de gevalideerde standaard voor VAP. Bij het vastleggen van de drempelwaarde van deze kwantitatieve kweek werd voor de waarde van 10^4 kolonievormende eenheden (KVE) per ml gekozen, met als streefdoel de kans op een fout-negatieve diagnose van VAP te verkleinen.²¹ De huidige drempelwaarde van 10^4 KVE/ml impliceert bijgevolg een aantal fout-positief gediagnosticeerde VAP's.²² Daar komt nog bij dat verscheidene onderzoekers^{13,16} een exclusiecriteria hanteerden van 5 of meer dan 5 procent bronchusepitheelcellen en dit is zoals hierboven vermeld erg weinig stringent voor het uitsluiten van bronchiale contaminatie. De huidige 'gouden' kweekstandaard voor VAP is daarom waarschijnlijk te sensitief, hetgeen een verklaring kan zijn – althans ten dele – voor lagere sensitiviteit van de telling van geïnfecteerde cellen. Er zijn verder tegenstrijdige resultaten gemeld in relatie tot antibioticagebruik vóór of tijdens bronchoscopie op de aanwezigheid van geïnfecteerde cellen.^{23,24} Aangezien tot één derde van de patiënten die worden verdacht van VAP antibiotica krijgt voorafgaand aan de bronchoscopie¹⁵, moet dit verder worden bestudeerd, waarbij speciale aandacht moet worden besteed aan de invloed van antibiotica die niet of slechts gedeeltelijk effectief zijn tegen de veronderstelde pathogenen. Met het oog op al deze interfererende factoren, opteerden wij voor de laagst beschreven drempelwaarde voor geïnfecteerde cellen, namelijk 2 procent.¹⁵ Uitgaande van het totale bacterieaantal in BAL-vloeistof (en niet alleen de kweekdrempel) als eindpunt voor vergelijking, kwamen Meduri en medewerkers²² tot de conclusie dat de percentages PMN en geïnfecteerde cellen gerelateerd waren aan de ernst van de pneumonie en duidelijk de mate van lokale ontsteking aangaven.

- Cytologische afwijkingen bij niet-infectieuze longaandoeningen
Niet-infectieuze longaandoeningen zoals alveolaire bloedingen, medicament-geïnduceerde longafwijkingen, ARDS of aspiratie van maaginhoud kunnen een klinisch beeld geven dat overeen-

komt met dat van VAP.²⁵ De aanwezigheid van geactiveerde lymfocyten, plasmacellen, meer dan 5 procent eosinofielen, een overmaat aan schuimmacrofagen en reactieve type-II-pneumocyten kunnen wijzen op één van deze mogelijkheden.⁹ Hoewel deze bevindingen voorspellend zijn, zijn ze niet specifiek. Zo kunnen bovengenoemde celtypen eveneens voorkomen bij infecties veroorzaakt door *P. carinii* en *M. tuberculosis*,²⁶ en is het verder ook bekend dat niet-infectieuze longaandoeningen zoals longbloeding en ARDS kunnen voorbeschikken tot infectie.²⁷ Om deze redenen is het van belang de BAL-vloeistof aan een grondig en volledig microbiologisch onderzoek te onderwerpen, vooraleer de diagnose "niet-infectieuze longaandoening" vanuit de BAL-vloeistof-cytologie te opperen.

Conclusie

De hier beschreven laboratoriumverwerking van BAL-vloeistof is goed toepasbaar in de traditionele microbiologie en levert resultaten binnen een verwerkingstijd van maximaal twee uur. De percentages van PMN en geïnfecteerde cellen in de BAL-vloeistof bieden waardevolle aanwijzingen voor de diagnose VAP, en goed te herkennen cytologische afwijkingen suggereren een niet-infectieuze longaandoening. Het is onze ervaring dat intensivisten en longartsen positief staan tegenover deze vorm van diagnostiek. Bovendien hebben wij zelf meer inzicht gekregen in de microbiologie en de differentiële diagnose van VAP, en betekent de BAL-vloeistof-cytologie een significante bijdrage voor de dagelijkse patiëntenzorg.

Referenties

- Klech H, Pohl W. Technical recommendations and guidelines for bronchoalveolar lavage (BAL). *Eur Respir J* 1989;2:561-5.
- Capron F, Perrot J, Szekeres G, Caulet S. Technique du liquide de lavage bronchoalveolaire dans un laboratoire central d'anatomie et cytologie pathologiques. *Ann Pathol* 1990;10:278-81.
- Jacobs JA, De Brauer EIGB. Applications of BAL fluid cytology for the assessment of infectious lung disease. *Hosp Medicine* 1999;60:550-6.
- Fagon J-Y, Chastre J, Wolff M, et al. Invasive and noninvasive strategies for management of suspected ventilator-associated pneumonia. *Ann Intern Med* 2000;132:621-30.
- Jacobs JA, De Brauer EIGB, Cornelissen EIM, Drent M. Accuracy and precision of quantitative calibrated loops in the transfer of BAL fluid. *J Clin Microbiol* 2000;38:2117-21.
- Chapin-Robertson K., Dahlberg SE, Edberg SC. Clinical and laboratory analyses of cytospin-prepared Gram stains for recovery and diagnosis of bacteria from sterile body fluids. *J Clin Microbiol* 1992;30:377-80.
- Dacie JV, Lewis SM. *Practical Haematology*, 6th ed., 1984; pp.50-56. Churchill Livingstone, Edinburgh, England.
- Lassence de A, Fleury-Feith J, Escudier E, Beaune J, Bernaudin JF, Cordonnier C. Alveolar hemorrhage. Diagnostic criteria and results in 194 immunocompromised hosts. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:157-63.
- Jacobs JA, De Brauer EIGB, Ramsay G, et al. Detection of non-infectious conditions mimicking pneumonia in the intensive care setting: usefulness of BAL fluid cytology. *Respir Medicine* 1999;93:571-8.
- De Brauer EIGB, Jacobs JA, Nieman FH, Bruggeman CA, Drent M. Test characteristics of Acridine Orange, Gram and May-Grünwald Giemsa stains for the detection of intracellular organisms in bronchoalveolar lavage fluid. *J Clin Microbiol* 1999;37:427-9.
- Kahn FW, Jones JM. Diagnosing bacterial respiratory infection by bronchoalveolar lavage. *J Infect Dis* 1987;155:862-9.
- Gerbaux P, Ledoray V, Boussuges, Molenat F, Jean P, Sainty JM. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia in mechanically ventilated patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:76-80.
- Aubas S, Aubas P, Capdevila X, Darbas H, Roustan J-P, du Cailar J. Bronchoalveolar lavage for diagnosing bacterial pneumonia in mechanically ventilated patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:860-6.
- Pugin J, Auckenthaler R, Mili N, Janssens JP, Lew PD, Suter PM. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia by bacteriologic analysis of bronchoscopic and nonbronchoscopic "blind" bronchoalveolar lavage fluid. *Am Rev Respir Dis* 1991;143:1121-9.

Summary

BAL fluid cytology is a valuable tool in the assessment of patients suspected of ventilator-associated pneumonia (VAP). The total cell count is performed in a Fuchs-Rosenthal haemocytometer. Cyto-centrifuged preparations are stained according to May-Grünwald Giemsa and the differential cell count is performed on 500 nucleated cells. In healthy individuals, the BAL fluid comprises alveolar macrophages (80 to 90 percent), lymphocytes (5 to 10 percent), polymorphonuclear neutrophils (PMN, 1 to 2 percent), eosinophils and mast cells (1 to 2 percent). Further, squamous and bronchial epithelial cells may be seen, and – exclusively in pathological conditions – reactive type II pneumocytes and plasma cells. Cells containing microorganisms (infected cells) are enumerated and expressed as a percentage of the 500-cell aliquot. BAL fluid samples are technically invalid at a total cell count less than 60.000 per ml, and they are invalid for quantitative culture if the number of squamous or bronchial epithelial cells is 1 percent or more. A PMN percentage of 50 argues against pneumonia, while an infected cell count of 2 or more percent strongly supports the diagnosis VAP. Activated lymphocytes, plasma cells, more than 5 percent eosinophils, reactive type II pneumocytes and a preponderance of foamy alveolar macrophages point to an alternative diagnosis such as drug-induced pneumonitis, ARDS or aspiration of gastric contents.

Dr. J.A. Jacobs, arts-microbioloog, Academisch Ziekenhuis Maastricht, Postbus 5800, 6202 AZ Maastricht

- Allaouchiche B, Jaumain H, Dumontet C, Motin J. Early diagnosis of ventilator-associated pneumonia. Is it possible to define a cutoff value of infected cells in BAL fluid? *Chest* 1996;110:1158-65.
- Timsit JF, Misset B, Goldstein FW, Vauzy P, Carlet J. Reappraisal of distal diagnostic testing in the diagnosis of ICU-acquired pneumonia. *Chest* 1995;108:1632-9.
- Solé-Violán J, Rodriguez de Castro F, Rey A, Martin-González JC, Cabrera-Navarro P. Usefulness of microscopic examination of intracellular organisms in lavage fluid in ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1994;106:889-94.
- Nakos G, Kitsioulis EL, Tsangaris L, Lekka MD. Bronchoalveolar lavage fluid characteristics of early intermediate and late phases of ARDS. *Intensive Care Med* 1988;24:296-303.
- Kirtland SH, Corley DE, Winterbauer RH, et al. The diagnosis of ventilator-associated pneumonia. A comparison of histologic, microbiologic and clinical criteria. *Chest* 1997;112:445-57.
- Chastre J, Fagon J-Y, Soler P, et al. Diagnosis of nosocomial bacterial pneumonia in intubated patients undergoing ventilation: comparison of the usefulness of bronchoalveolar lavage and the protected specimen brush. *Am J Med* 1988;85:499-506.
- Meduri GU, Chastre J. The standardization of bronchoscopic techniques for ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1992;102:557-64.
- Meduri G, Reddy R, Stanley T, El-Zeky F. Pneumonia in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:870-5.
- Dotson RG, Pingleton SK. The effect of antibiotic therapy on recovery of intracellular bacteria from bronchoalveolar lavage in suspected ventilator-associated nosocomial pneumonia. *Chest* 1993;103:541-6.
- Souweine B, Veber B, Bedos JP, et al. Diagnostic accuracy of protected specimen brush and bronchoalveolar lavage in nosocomial pneumonia: impact of previous antimicrobial treatments. *Crit Care Med* 1998;26:236-44.
- Timsit JF, Chevret S, Valcke J, et al. Mortality of nosocomial pneumonia in ventilated patients: influence of diagnostic tools. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:116-23.
- Jacobs JA, Dieleman MM, Cornelissen EIM, Groen EAH, Wagenaar SJC, Drent M. Bronchoalveolar lavage fluid cytology in patients with *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Acta Cytol*, in press.
- Marquette CH, Copin M-C, Wallet F, Nevrier R, et al. Diagnostic tests for pneumonia in ventilated patients: prospective evaluation of diagnostic accuracy using histology as a diagnostic gold standard. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:1878-88.

Therapie van en handelwijze bij kinkhoestpatiënten

F.G.A. VERSTEEGH, J.J. ROORD

Diagnostiek en behandeling van kinkhoest zijn door de toename van het aantal infecties de laatste jaren weer meer actueel geworden. De komst van nieuwe technieken en antibiotica hebben gedurende de laatste jaren tot veranderingen geleid. Met name het inzicht dat vaccinatie en natuurlijke infectie geen levenslange bescherming bieden, heeft geleid tot nieuwe richtlijnen ten aanzien van behandeling en profylaxe.

Trefwoorden: kinkhoestdiagnostiek, kinkhoestbehandeling, kinkhoestsymptomatologie, *B. pertussis*

Ziekteverloop

Kinkhoest, voor het eerst beschreven door Baillou¹ naar aanleiding van een epidemie in Parijs in 1578, is een ziekte die wordt gekenmerkt door drie fases: de catarrale fase, de paroxysmale fase en de herstelfase. Na een incubatietijd van enkele dagen tot ongeveer twee weken begint de catarrale fase, gekenmerkt door aspecifieke symptomen als verkoudheid en milde hoest. Deze fase duurt ongeveer twee weken en gaat langzaam over in de paroxysmale fase. In deze periode beginnen de heftige hoestbuien met het 'kinken' en het opgeven van taai slijm, bij jonge kinderen vaak ook gepaard gaand met cyanose en apneus. De duur van deze klachten hangt af van de leeftijd, de vaccinatiestatus en eerder doorgemaakte kinkhoestinfecties. De heftigste klachten duren enkele weken, maar volledig herstel kan tot ongeveer drie maanden duren. Vooral bij adolescenten en volwassenen komen veel subklinische kinkhoestinfecties voor met aspecifieke symptomen.^{2,3}

Diagnose

De diagnose 'kinkhoest' is in de eerste plaats een klinische diagnose, die dient te worden bevestigd met kweek, PCR of serologie.^{4,5} In het begin van de ziekte (in de catarrale fase en – minder – in de paroxysmale fase) kan een kweek of PCR worden ingezet, waarbij de laatstgenoemde nog wat langer na de eerste ziektedag kans op positieve uitkomsten biedt. Voor de kweek is een zorgvuldige procedure nodig. Serologie kan altijd worden ingezet, met inachtneming van de periode vanaf de eerste ziektedag, gezien de langzame respons. Bij jonge kinderen blijft de kans op een positieve kweek of PCR langer bestaan, doordat de bacterie langer aanwezig blijft, mogelijk door een onrijp immuunsysteem. Ook de serologische respons bij jonge kinderen is trager. Ondanks klassieke klachten wordt de diagnose vaak gemist.⁶ Bekend is dat bepaalde virale infecties een klinisch beeld kunnen geven dat lijkt op kinkhoest (onder andere adenovirus, RSV, (para)influenzavirus). Ook komen regelmatig dubbele infecties voor. Het kan dus belangrijk zijn bij verdenking op kinkhoest ook virologisch onderzoek in te zetten.⁷⁻¹³ Het meest gemakkelijk is serologie. Virusisolatie uit nasopharynx- of keelwat is zeker in het begin van de ziekte goed mogelijk, maar op dit moment geen routine.

Therapie

Gezien het ziektebeloop en de huidige inzichten betreffende de effectiviteit van de medicatie is het belangrijk snel met

behandeling te starten op geleide van het klinische beeld, nog vóór de uitslag van de diagnostiek bekend is.¹⁴ Sinds decennia wordt hiervoor erythromycine voorgeschreven.^{15,16} Ook van de nieuwe macroliden (claritromycine, azitromycine, roxitromycine) is een gunstig effect bekend, hoewel er weinig gegevens zijn uit klinische onderzoeken.¹⁷ In het algemeen wordt ervan uitgegaan dat behandeling slechts zin heeft in het catarrale stadium, en dat behandeling in een later stadium geen verkorting van de ziekteduur geeft.^{15,16} Zoals echter blijkt uit het effect van macroliden bij de behandeling van CF-patiënten hebben deze middelen ook invloed op de hoestprikkel en de slijmvorming, onder andere door hun anti-inflammatoire werking.^{18,19} Om deze reden zou een latere of langere behandeling met macroliden misschien wel zinvol kunnen zijn. Gegevens hierover ontbreken echter. In 1991 rapporteerden Granström et al. het succesvolle gebruik van hyperimmuunserum tegen kinkhoest bij kinderen jonger dan drie jaar met ernstige kinkhoest, vooral als de behandeling binnen een week na de eerste ziektedag werd gestart. Al in de jaren 30 en 40 van de twintigste eeuw werden succesvolle behandelingen gemeld met hyperimmuunserum.²⁰ Deze therapie heeft echter (nog) geen vaste plaats verworven in de behandeling van ernstige kinkhoest bij jonge kinderen.²¹ Hyperimmuunserum tegen kinkhoest is in Nederland niet beschikbaar.

Kinkhoest bij volwassenen

Ondanks de hoge vaccinatiegraad in Nederland wordt er de laatste jaren een toename van het aantal kinkhoestinfecties gezien, zelfs wanneer men er geen rekening mee houdt dat de aangifte achterblijft bij de incidentie.⁵ Deze toename vindt niet alleen plaats bij niet-gevaccineerden, maar juist ook bij gevaccineerden.^{22,23} Het is duidelijk dat vaccinatie geen levenslange bescherming tegen kinkhoest geeft.^{24,25} Inmiddels zijn er ook rapportages over recidieve kinkhoestinfectie na het doormaken van een natuurlijke infectie.^{2,26,27}

Volwassenen lijken het reservoir voor kinkhoestinfecties te zijn en mogelijk regelmatig een dergelijke infectie door te maken met vaak aspecifieke symptomen (zie Tabel 1).³

Voor volwassenen en grotere kinderen is het doormaken van een kinkhoestinfectie niet levensbedreigend, voor jonge kinderen en met name zuigelingen echter wel. Ook zijn er langetermijneffecten op de longfunctie beschreven na kinkhoestinfecties bij jonge kinderen, al zijn deze beschrijvingen niet eenduidig.²⁸⁻³⁰

Tabel 1. Aspecifieke symptomen bij kinkhoest³

Pharynxklachten:	<ul style="list-style-type: none"> • 'jeuk' • pijn / pijnlijke keel • heesheid
Griepachtige klachten:	<ul style="list-style-type: none"> • subfebriële temperatuur • malaise • artralgie
Sinuspijn	
Zweetaanvallen	

Profylaxe

Er zijn weinig goede onderzoeken over het profylactische gebruik van macroliden bij kinkhoest. Om infectie te voorkomen is het belangrijk om personen uit de risicogroepen die tot de familiekring van een patiënt behoren of via bijvoorbeeld school in contact zijn gekomen met kinkhoest, profylactisch te behandelen. Risicogroepen zijn kinderen onder de vijf jaar die niet of nog onvolledig gevaccineerd zijn, pasgeborenen en personen met een ernstige onderliggende ziekte. Het landelijk behandeladvies is erythromycine 40 mg/kg per dag (max. 2 g/dag) in drie doses per dag gedurende 14 dagen.³¹ Het valt aan te nemen dat de nieuwere macroliden even effectief zijn tegen kinkhoest en dat deze ook in de profylaxe kunnen worden gebruikt. De gebruikelijke doseringen zijn hiervoor van toepassing, en een behandelingsduur van eveneens 14 dagen. Of een langere behandeling zinvol is, is niet aangetoond, maar lijkt het overwegen waard bij persisteren of recidiveren van de klachten. Vaak is echter het jonge kind de indexpatiënt voor de volwassenen; dan heeft antibioticaprofylaxe geen zin meer. Overigens zijn de adviezen van de American

Academy of Pediatrics (AAP) ten aanzien van profylaxe veel stringenter: de AAP adviseert immunisatie te starten of te voltooien bij contacten jonger dan zeven jaar. Bij volledig gevaccineerden wordt een booster aanbevolen. Daarnaast wordt de antibiotische profylaxe niet alleen voor de contacten thuis aanbevolen, maar ook op crèches en scholen.¹⁴ Kinkhoestinfecties zouden ook kunnen worden voorkomen door volwassenen te revaccineren met acellulaire kinkhoestvaccins. Met name de drie- en vijf-componentenvaccins lijken een goede effectiviteit te hebben. De resultaten van booster-vaccinaties zijn echter nog niet eenduidig.³²⁻³⁴ Ook is niet duidelijk wie voor revaccinatie in aanmerking komen, en hoe vaak iemand dan gerevaccineerd zou moeten worden om te voorkomen dat de kinkhoest in een populatie aanwezig blijft.

Summary

These past few years, the diagnosis and treatment of whooping cough have become more current again, due to the increased number of infections. New techniques and antibiotics have invoked changes in dealing with whooping cough, and especially the awareness that vaccination and natural infection don't provide life-long protection against infection has led to new guidelines concerning treatment and prophylaxis.

F.G.A. Versteegh, kinderarts, Groene Hart Ziekenhuis, afdeling Kindergeneeskunde, Postbus 1098, 2800 BB Gouda

Prof. dr. J.J. Roord, hoogleraar kindergeneeskunde, Academisch Ziekenhuis Vrije Universiteit, afdeling Kindergeneeskunde, Postbus 7057, 1007 MB Amsterdam

Literatuur

- Cone TEC. Whooping cough is first described as a disease sui generis by Baillou in 1640. *Pediatr* 1970;46:522.
- Long SS, Welton CJ, Clark JL. Widespread silent transmission of pertussis in families: antibody correlates of infection and symptomatology. *J Infect Dis* 1990;161:480-6.
- Postels-Multani S, Schmitt HJ, Wirsing von König CH, Bock HL, Bogaerts H. Symptoms and complications of pertussis in adults. *Infection* 1995;23:139-42.
- Melker HE de, Versteegh FGA, Conyn-van Spaendonck MAE, Elvers LH, Berbers GAM, Zee A van der, et al. Specificity and sensitivity of high levels of Immunoglobulin G antibodies against pertussis toxin in a single serum sample for diagnosis of infection with *Bordetella pertussis*. *J Clin Microbiol* 2000;38:800-6.
- Schellekens JFP, Melker HE de, Conyn-van Spaendonck MAE. De laboratoriumdiagnostiek en de aangifte van kinkhoest: een grillige pas de deux. *Ned Tijdschr Med Microbiol* 1996;4:93-6.
- Deeks S, De Serres G, Boullanne N, Duval B, Rochette L, Déry P, et al. Failure of physicians to consider the diagnosis of pertussis in children. *Clin Infect Dis* 1999;28:840-6.
- Aoyama T, Ide Y, Watanabe J, Takeuchi Y, Imaizumi A. Respiratory failure caused by dual infection with *Bordetella pertussis* and respiratory syncytial virus. *Acta Paediatr Jpn* 1996;38:282-5.
- Moshal KL, Hodinka R, McGowan KL. Concomitant viral and *Bordetella pertussis* infections in infants. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17:353-4.
- Nelson KE, Gavitt F, Batt MD, Kallick CA, Reddi KT, Levin S. The role of adenoviruses in the pertussis syndrome. *J Pediatr* 1975;86:335-41.
- Sturdy PM, Court SDM, Gardner PS. Viruses and whooping-cough. *Lancet* 1971;978-9.
- Wirsing von König CH, Rott H, Bogaerts H, Schmitt HJ. A serological study of organisms possibly associated with pertussis-like coughing. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17:645-9.
- Dreus AL, Atmar RL, Glezen WP, Baxter BD, Piedra PA, Greenberg SB. Dual respiratory virus infections. *Clin Infect Dis* 1997;25:1421-9.
- Hallander HO, Gnärpe J, Gnärpe H, Olin P. *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* and persistent cough in children. *Scand J Infect Dis* 1999;31:281-6.
- American Academy of Pediatrics. Pertussis. In: Peter G, ed. 1997 Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases. 24th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics 1997;394-407.
- Altemeier WA, Ayoub EM. Erythromycin prophylaxis for pertussis. *Pediatr* 1977;59:623-5.
- Bass JW. Erythromycin for treatment and prevention of pertussis. *Ped Infect Dis* 1986;5:154-7.
- Hoppe JE, Eichorn A. Activity of new macrolides against *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1989;8:653-4.
- Ianaro A, Ialenti A, Maffia P, Sautebin L, Rombola L, Carnuccio R, et al. Anti-inflammatory activity of macrolide antibiotics. *J Pharmacol Exp Ther* 2000;292:156-63.
- Scaglione F, Ferrara F, Dugnani S, Demartini G, Triscari F, Fraschini F. Immunostimulation by clarithromycin in healthy volunteers and chronic bronchitis patients. *J Chemotherapy* 1993;5:228-32.
- Gordon JE, Hood RI. Whooping cough and its epidemiological anomalies. *Am J Med Sci* 1951;222:333-61.
- Granström M, Olinder-Nielsen AM, Holmblad P, Mark A, Hanngren K. Specific immunoglobulin for treatment of whooping cough. *Lancet* 1991;338(8777):1230-3.
- Conyn-van Spaendonck MAE, Melker HE de, Rümke HC, Wijngaarden JK van, Mooi FR, Schellekens JFP. Epidemische verheffing van kinkhoest in 1996 ondanks hoge vaccinatiegraad. *Ned Tijdschr Geneesk* 1997;141:1277-80.
- Sheldon T. Dutch whooping cough epidemic puzzles scientists. *BMJ* 1998;316(7125):92.
- Okada K, Ueda K, Morokuma K, Fukushige J, Miyazaki C. Comparison of antibody titers in eleven- to twelve- year old Japanese school children six years after administration of acellular and whole cell pertussis vaccines combined with diphtheria-tetanus toxoids. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17:1167-9.
- Tindberg Y, Blennow M, Granström M. A ten year follow-up after immunization with a two component acellular pertussis vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:361-5.
- Wirsing von König CH, Postels-Multani S, Bock HL, Schmitt HJ. Pertussis in adults: frequency of transmission after household exposure. *Lancet* 1995;346:1326-9.
- Versteegh FGA, Melker HE de, Schellekens JFP. Lange termijn serologie tegen *Bordetella pertussis*. *Tijdschr Kindergeneesk* 1999; suppl 1:86.
- Britten N, Wadsworth J. Long term sequelae of whooping cough in a nationally representative sample. *BMJ* 1986;292:441-4.
- Howenstine M, Eigen H, Tepper R. Pulmonary function in infants after pertussis. *J Pediatr* 1991;118:563-6.
- Johnston IDA, Strachan DP, Anderson HR. Effect of pneumonia and whooping cough in childhood on adult lung function. *NEJM* 1998;338:581-7.
- LCl-protocol Pertussis-kinkhoest. Den Haag 1998.
- Jenkinson D. Duration of effectiveness of pertussis vaccine: evidence from a 10 year community study. *BMJ* 1988;296:612-4.
- Cherry JD, Baraff LJ, Hewlett E. The past, present, and future of pertussis. The role of adults in epidemiology and future control. *West J Med* 1989;150:319-28.
- Cherry JD, Olin P. The science and fiction of pertussis vaccines. *Pediatr* 1999;104:1381-4.

Suzanne Geerlings (UMCU) wint laatste SB-ICAAC-Award

Tijdens de Interscience Conference for Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC) te Toronto (Canada) is voor de zevende maal de SB-ICAAC-Award uitgereikt.

Gezien de fusie tussen SmithKline Beecham Farma bv. en Glaxo Wellcome was dit in ieder geval de laatste SB-ICAAC-Award. De jury bestond dit jaar uit prof. dr. C.M.J.E. Vandembroucke-Grauls, prof. dr. J.E. Degener en prof. dr. I.M. Hoepelman (voorzitter). Naast relevantie, originaliteit, methodologie en conclusie wordt door de jury gelet op de presentatie.

De prijs werd dit jaar uitgereikt aan mw. dr. S.E. Geerlings van het Universitair Medisch Centrum te Utrecht voor haar onderzoek naar de veranderingen aan de uro-epitheliale receptor, die de verhoogde incidentie van urineweginfectie bij vrouwen met suikerziekte verklaart. De jury vond dit een fraaie bekroning van haar klinisch-epidemiologisch onderzoek naar bacteriurie bij vrouwen met suikerziekte, dat in 1999 had geresulteerd in vier presentaties op ICAAC en dit jaar in twee. Het aantal Nederlandse bijdragen is voor het eerst dit jaar niet verder gestegen en bleef met 99 net onder de honderd steken. Opvallend was dat de Nederlandse bijdragen zich concentreerden in vier universitaire centra. Het Academisch Medisch Centrum te Amsterdam was tezamen met het Universitair Medisch Centrum St. Radboud koploper met 20, gevolgd door 18 uit het Universitair Medisch Centrum Utrecht en 15 uit het Erasmus Universitair Medisch Centrum Rotterdam; bij elkaar dus 74 procent van de Nederlandse bijdragen. Er waren weinig bijdragen vanuit niet-academische centra, wel waren er dit jaar meer gecombineerde bijdragen

(14), waarbij het Canisius Wilhelmina ziekenhuis uit Nijmegen duidelijk de kroon spande.

Naast de winnende bijdrage had de jury veel lof voor het originele onderzoek van Nienke Bruinsma uit Maastricht naar de relatie tussen bevolkingsdichtheid en het ontstaan van antibioticaresistentie, voor dr. Mihai Netea uit Nijmegen voor zijn onderzoek naar de rol van Toll-like receptoren bij niet-LPS-gemedieerde cytokineproductie door bestanddelen van *Chlamydia pneumoniae*, de fraaie presentaties van dr. Melitiadis uit Nijmegen over het onderzoek naar filamenteuze fungi en een aantal fraaie bijdragen uit het AMC (diverse onderzoekers) naar de pathogenese van tuberculose. Opvallende runner-up was mw. C.A. Schurink uit Utrecht, die met name met haar presentatie over het gebruik van de computer bij het voorschrijven van antibiotica bij beademingspneumonie op de IC velen aangenaam verraste.

Daarnaast vond de jury het opvallend dat veel van de genomiseerde onderzoeken voortkomen uit eerdere prijswinnaars als dr. Marc Bonten, dr. Tom van der Poll, Paul Verwey en Johan Mouton, de keuzes van eerdere jury's bevestigend.

Een ieder gaat ervan uit dat ook na de fusie van de twee farmaceutische industrieën de prijs wordt gecontinueerd. Een dergelijk initiatief bevordert niet alleen de competitie en de kwaliteit, maar tevens de contacten tussen Nederlandse onderzoekers onderling.

Prof. dr. I.M. Hoepelman, voorzitter SB-ICAAC-Award

Nieuwe uitgaven van de Werkgroep Infectiepreventie

WIP richtlijn no. 22b:

Infectiepreventie op de afdeling radiodiagnostiek en hartkatheterisatie

Herziene richtlijn, uitgegeven november 2000

f 10,00

In deze richtlijn worden adviezen gegeven betreffende hygiëne-maatregelen op de afdeling radiologie en de afdeling hartkatheterisatie. De richtlijn wordt voorafgegaan door een begrippenlijst. Behandelde onderwerpen zijn persoonlijke hygiëne, infecties medewerkers, handhygiëne, persoonlijke beschermingsmiddelen, accidenteel bloedcontact, reiniging, desinfectie en hergebruik in de radiodiagnostiek, pre-operatieve handdesinfectie, de geïsoleerde patiënt in de röntgenkamer en, als laatste hoofdstuk, bouw en inrichting van de afdeling.

WIP richtlijn no. 45a:

Algemene voorzorgsmaatregelen longafdeling en longfunctieonderzoek

Uitgegeven november 2000

f 8,00

Deze richtlijn beschrijft de voorzorgsmaatregelen ter voorkoming van infecties bij de beroepsuitoefening van de medewerkers op de longafdeling en bij het longfunctieonderzoek. Deze richtlijn bouwt voort op de richtlijn Algemene Voorzorgsmaatregelen no 1. Aan de orde komen: de persoonlijke hygiëne, infecties medewerkers, handhygiëne, persoonlijke beschermingsmiddelen, reiniging en desinfectie, veilig werken op de longafdeling, longfunctieonderzoek en bloedgasbepaling. De richtlijn wordt afgesloten met een literatuurlijst.

**WIP richtlijn no. 48a:
Algemene Voorzorgsmaatregelen in de verloskunde**

Uitgegeven november 2000

f 10,00

Deze richtlijn beschrijft de voorzorgsmaatregelen ter voorkoming van infectie bij de beroepsuitoefening van de verloskundige hulpverleners en bouwt voort op de richtlijn Algemene Voorzorgsmaatregelen no 1. Aan de orde komen de persoonlijke hygiëne, infecties bij medewerkers, handhygiëne, persoonlijke beschermingsmiddelen, reiniging en desinfectie, accidenteel bloedcontact, en als laatste hoofdstuk veilig werken

in de verloskunde. De richtlijn wordt afgesloten met een uitgebreide literatuurlijst.

De richtlijnen zijn te bestellen bij:

Documentatie Centrum

Werkgroep Infectiepreventie

T.a.v. Mw. Th. Daha

Leids Universitair Medisch Centrum - E4-P-50

Postbus 9600

2300 RC Leiden

e-mail: stwip@wip.nl

Uitreiking van de MERIAL-Award voor parasitologie

Dr. Jaap van Hellemond, veterinaire parasitoloog van de Afdeling Biochemie aan de faculteit Diergeneeskunde in Utrecht heeft de MERIAL-Award 2000 voor parasitologie gekregen. Aan de prijs is een oorkonde en een bedrag van f 5.000,- verbonden.

“Parasitaire infecties vormen over de gehele wereld een groeiende bedreiging voor de gezondheid van mens en dier. Door een gebrek aan effectieve bestrijdingsmiddelen en de snelle toename van resistente parasieten is er dringend behoefte aan nieuwe medicamenten”. Dit zei Prof. dr. A.G.M. Tielens, voorzitter van de Nederlandse Vereniging voor Parasitologie, toen hij de prijswinnaar roemde om zijn innovatieve onderzoek dat zeer fundamenteel van karakter is, maar wel met het oog op latere mogelijke toepassingsmogelijkheden wordt uitgevoerd. Gebruik makend van zowel moderne biochemische als moleculair-biologische technieken heeft Van Hellemond een aantal belangrijke ontdekkingen gedaan die hebben geleid tot een verhoogd inzicht in een aantal processen die uniek zijn voor parasieten, en die tevens kunnen helpen bij de ontwikkeling van nieuwe medicamenten.

De MERIAL-Award, die afwisselend naar een medisch of veterinaire parasitoloog gaat, wordt jaarlijks toegekend aan een gepromoveerd onderzoeker uit de Benelux die belangwekkend en innovatief werk heeft verricht. De prijs is dit jaar voor de vijfde maal uitgereikt.

Informatie: prof. dr. A.G.M. Tielens, Nederlandse Vereniging voor Parasitologie, tel. (030) 253 53 80, fax (030) 253 54 92, e-mail: tielens@biochem.vet.uu.nl.



Prijswinnaar dr. J.J. van Hellemond, omringd door de juryleden (van links naar rechts) prof. dr. B. Losson (Belgische Vereniging voor Parasitologie), drs. E. Pieke (MERIAL) en prof. dr. A.G.M. Tielens (Nederlandse Vereniging voor Parasitologie).

Opleiding Infectieziektebestrijding

In januari 2001 gaat de opleiding Infectieziektebestrijding weer van start. De opleiding wordt verzorgd door de Netherlands School of Public Health (NSPH) en het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM) en is bedoeld voor GGD-artsen, militaire artsen, hygiënisten in instellingen, artsen bij ARBO-diensten en andere organisaties zoals de regionale inspecties en reizigersadviescentra. Het doel van de opleiding is de deelnemers op te leiden tot deskundigen in de infectieziektebestrijding op regionaal (GGD) niveau. De opleiding bestaat uit – afzonderlijk te volgen – modules. Module 1 start op woensdag, 17 januari 2001.

De volgende modules zijn onderdeel van het curriculum:

- I. *Methoden in de praktijk van de infectieziektebestrijding (januari-februari 2001)*

- II. *Reizigersadviesering en -immunisatie (september-oktober 2001)*
- III. *Public health aspecten van infectieziektebestrijding (april-mei 2001)*
- IV. *Hygiëne in instellingen (januari-februari 2002)*
- V. *Capita selecta van de infectieziektebestrijding (april-mei 2002)*

Voor nadere informatie over de opleiding, de modules en de kosten kunt u de brochure “Infectieziektebestrijding 2001/2002” aanvragen bij mevrouw S. van der Zee of mevrouw G. van Breukelen (secretarissen) bij de NSPH, telefoon (030) 291 32 32 of per e-mail: s.vanderzee@nsph.nl of gvanbreukelen@nsph.nl.

Nieuwe aanmeldingen NVMM

- Mw. Dr. M.H.J. Bennik, Herenstraat 12, 6701 DK Wageningen
- A. Bosman, Jachthoeve 38, 3992 NV Houten
- Mw. A.M.E. Claessen, St. Antonius Ziekenhuis, Afd. Medische Microbiologie en Immunologie, Koekoekslaan 1, 3435 CM Nieuwegein
- Mw. Dr. B. Duim, Eemsstraat 24 II, 1079 TH Amsterdam
- E.R. Heddemma, Academisch Medisch Centrum, Afd. Medische Microbiologie, K.LI-104, Meibergdreef 9, 1105 AZ Amsterdam
- Dr. P.W.M. Hermans, Erasmus Universiteit Rotterdam, Laboratorium Kindergeneeskunde, Postbus 1738, 3000 DR Rotterdam
- Mw. Dr. Ir. C.A. Koelman, EUR/AZR-Dijkzigt, Afdeling Immunologie, kamer Ee877, Postbus 1738, 3000 DR Rotterdam
- Dr. A. Meijer, Middelgronden 26, 1274 BN Huizen
- Mw. M. van Nuenen, TNO-Voeding, Afdeling AMGI, Utrechtseweg 48, 3700 AJ Zeist

- Mw. Dr. Ir. A. Ultee, Tarthorst 929, 6708 JE Wageningen
- Dr. A.H.M. van Vliet, Academisch Ziekenhuis Rotterdam, Afd. Maag-, darm- en leverziekten, Postbus 2040, 3000 CA Rotterdam

Adreswijzigingen

- Dr. M.B. de Jong, Leids Universitair Medisch Centrum, Afd. Medische Microbiologie, Postbus 9600, 2300 RC Leiden (voorheen Academisch Medisch Centrum, Amsterdam)
- Dr. J.G. Kusters, Academisch Ziekenhuis Rotterdam, Afd. Maag-, darm- en leverziekten (kamer L479), Postbus 2040, 3000 CA Rotterdam (voorheen AZVU Amsterdam)
- Mw. Drs. C. Schultsz, Academisch Ziekenhuis VU, Afd. Medische Microbiologie en Ziekenhuishygiëne, Postbus 7057, 1007 MB Amsterdam (voorheen Academisch Medisch Centrum, Amsterdam)

PROMOTIES

5 oktober 2000 - A. Lammers

Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* mastitis. In vitro studies on adhesion, invasion and gene expression.

Promotor: prof. dr. B.A.M. van der Zeijst. Co-promotores: dr. H.E. Smith, dr. P.J.M. Nuijten. Universiteit Utrecht, Fac. Diergeneeskunde, RIVM, Sector Vaccins, Bilthoven.

6 oktober 2000 - B.I.F. Klasens

The HIV-1 RNA genome and regulation of reverse transcription and polyadenylation.

Promotor: prof. dr. J. Goudsmit. Universiteit van Amsterdam, AMC, vakgr. Humane Retrovirologie.

15 november 2000 - A.H. Brandenburg

Respiratory syncytial virus infections in infants. Determinants of clinical severity.

Promotor: prof. dr. A.D.M.E. Osterhaus. Erasmus Universitair Medisch Centrum Rotterdam, afd. Virologie.

21 november 2000 - J.W. Dorigo-Zetsma

Molecular diagnosis and epidemiology of *Mycoplasma pneumoniae*.

Promotor: prof. dr. J. Dankert. Co-promotor: dr. S.A.J. Zaat. Universiteit van Amsterdam, AMC, afd. Medische Microbiologie.

23 november 2000 - D. van Baarle

Viro-immunological studies on the role of Epstein-Barr virus in the development of AIDS-related non-Hodgkin's Lymphoma.

Promotores: prof. dr. F. Miedema, prof. dr. M.H.J. van Oers. Universiteit van Amsterdam, AMC, Sanquin-CLB.

23 november 2000 - C.B. Polman

Epidemiological application of circulating antigen detection in schistosomiasis.

Promotores: prof. dr. A.M. Deelder, prof. dr. B.M.A.J. Gryseels. Leids Universitair Medisch Centrum, afd. Parasitologie.

29 november 2000 - R. Molenkamp

Nidovirus defective interfering genomes: A study of DI RNA replication, encapsidation and recombination.

Promotor: prof. dr. W.J.M. Spaan. Co-promotor: dr. E.J. Snijder. Leids Universitair Medisch Centrum, afd. Medische Microbiologie.

30 november 2000 - M.P. de Baar

The impact of HIV-1 subtypes on molecular diagnostics.

Promotor: prof. dr. J. Goudsmit. Co-promotor: dr. A. de Ronde. Universiteit van Amsterdam, AMC, vakgr. Humane Retrovirologie.

30 november 2000 - M. Swanenburg

Salmonella in the pork production chain: sources of Salmonella in pork.

Promotor: prof. dr. F. van Knapen. Co-promotores: dr. J.M.A. Snijders, dr. H.A.P. Urlings. Universiteit Utrecht, Fac. Diergeneeskunde, hoofdafd. Voedingsmiddelen van dierlijke oorsprong.

30 november 2000 - P.J. van der Wolf

Feasibility of Salmonella-free pig production in The Netherlands.

Promotores: prof. dr. M.J.M. Tielen, prof. dr. F. van Knapen. Universiteit Utrecht, Fac. Diergeneeskunde, hoofdafd. Voedingsmiddelen van dierlijke oorsprong.

1 december 2000 - J.J.E. Bijlsma

HP DNA AND pH. The acid resistance of *Helicobacter pylori*.
 Promotor: prof. dr. C.M.J.E. Vandenbroucke-Grauls. Co-promotor:
 dr. J.G. Kusters. Vrije Universiteit Amsterdam, Fac.
 Geneeskunde, afd. Medische Microbiologie en
 Infectiepreventie.

19 december 2000 - M. Langendam

The impact of harm reduction-based methadone treatment on
 HIV-infection and mortality.
 Promotor: prof. dr. R.A. Coutinho. Co-promotor: dr. E.J.C. van
 Ameijden. Universiteit van Amsterdam, GGD, Divisie
 Volksgezondheid en Milieu.

19 december 2000 - M. Haarbrink

Lymphatic Filariasis: infection, treatment and inflammatory
 cytokines.
 Promotor: prof. dr. A.M. Deelder. Co-promotor:
 dr. M. Yazdanbakhsh. Leids Universitair Medisch Centrum,
 afd. Parasitologie.

21 december 2000 - J.T.M. Voeten

Influenza. New vaccines and antiviral immunity.
 Promotor: prof. dr. A.D.M.E. Osterhaus. Co-promotor:
 dr. G.F. Rimmelzwaan. Erasmus Universitair Medisch Centrum
 Rotterdam, afd. Virologie.

22 december 2000 - A.E.J.M. van den Boogaard

Public health aspects of antimicrobial resistance in food
 animals.
 Promotores: prof. dr. C.A. Bruggeman, prof. dr. A. Pijpers.
 Universiteit Maastricht, Fac. Geneeskunde, capaciteitsgroep
 Medische Microbiologie. Universiteit Utrecht, Fac.
 Diergeneeskunde, afd. Landbouwhuisdieren.

Oratie**10 april 2001 - Prof. dr. F. Mooi**

Hoogleraar in de Moleculaire Microbiologie, Universiteit
 Utrecht, Faculteit Geneeskunde.

INDEX ACHTSTE JAARGANG**Auteursindex**

Voor de auteursindex van het Voorjaarscongres wordt verwezen
 naar het Supplement bij de achtste jaargang.

Adriaanse AH	37, 40
Benne CA	45
Blans MC	117
Bogaert D	9
Boucher CAB	124
Choy KW	129
Conyn-van Spaendonck MAE	101
Degener JE	73, 89
Elden LJR van	124
Essen GA van	124
Fleer A	57
Furth AM van	54
Furth R van	4
Gerards LJ	37, 40, 57
Goessens WHG	92
Groot R de	9
Hermans PWM	9
Hoepelman IM	124
Hoogkamp-Korstanje JAA	36
Kaan JA	3, 100, 129
Kimpen JLL	68
Klingeren B van	73, 89
Krediet TG	57
Leeuwen SJ van	16
Loon AM van	124
Mascini EM	117, 129
Melker HE de	101
Meis JFGM	16
Meulen AC ter	16
Mooi FR	109
Mouton JW	67
Mouton JW	73, 82

Mulder B	117
Neeleman C	16
Neeling H de	73
Neppelenbroek SE	101
Nijhuis M	124
Peeters MF	2, 35, 66, 99
Reubsat FAG	129
Rijkers GT	19
Sanders EAM	19
Schellekens JFP	101, 112
Snippe H	95
Tuut MK	121
Verweij PE	87
Vreede RW	25
Waar K	117
Werdmuller B	117
Westreenen M van	117
Woensel JBM van	68
Wolthers KC	117

Onderwerpindex

antivirale middelen	124
Asta Zien Grant	27
Beroepsbelangencommissie niet-registerleden	95
<i>Bordetella pertussis</i> , epidemiologie	112
<i>Bordetella pertussis</i> , vaccinatie	109
CBO	121
Commissie Richtlijnen Gevoeligheidsbepalingen	26, 67
conjugaatvaccin	19
cytomegalovirus	45
<i>Escherichia coli</i>	92
ESPID 2000	36
farmacodynamiek	82
gevoeligheidscriteria	73
gist	87
Gram-positieve staaf	129

groep-B-streptokok	37, 40	personalia	97, 132
<i>Haemophilus influenzae</i>	89	pneumokok, antibioticumresistente	9
hygiënist	99	pneumokokkeninfectie, fataal	16
index 1999	31	pneumokokkeninfecties	4
influenzavirus	124	pneumokokkenvaccinaties	4
kinkhoest, epidemiologie	101	respiratoir syncytieel virus	68
<i>Klebsiella oxytoca</i>	92	richtlijnen	121
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	92	schimmel	87
kwaliteitsinstituut	121	soldaten	100
luchtweginfectie, holtevormend	129	streeklaboratoria	2
Merial Award	28	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	89
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	89	surveillancegegevens	101
<i>Neisseria meningitidis</i>	89	Werkgroep Infectiepreventie	61, 95, 132
NIAZ, CCKL, NVMM	35	Werkgroep West	25
ontstekingsmediatoren	54	zelftests	66
outbreak management	117	ziekenhuisinfecties, neonataal	57

12 - 23 MAART 2001:

Boerhaave cursus: Medisch parasitologische diagnostiek,
Leiden. Inf.: Bureau Boerhaave-commissie. Tel.: (071) 527 52 95.

15 - 17 MAART 2001:

Noordwijk Food Safety & HACCP Forum,
Noordwijk. Inf.: Bastiaanse Communication. Tel.: (030) 229 42 47,
fax: (030) 225 29 10, e-mail: haccp@bastiaanse-
communication.com.

22 MAART 2001:

Symposium 'Developments in Immune Deficiency Disease',
AMC, Amsterdam. Kosten: f 75,-. Accreditatie is in aanvraag.
Inf.: De Interuniversitaire Werkgroep Immuundeficiënties en
het Convent Klinische Immunologie, fax: (020) 566 91 65, e-mail:
r.vandergaag@amc.uva.nl.

26 - 28 MAART 2001:

**Voorjaarsvergadering Nederlandse Vereniging voor
Microbiologie,**
Veldhoven, Conference Hotel Koningshof. Inf.:
Dr. B.M. Overbeek, Lab. voor de Volksgezondheid, Leeuwarden.
Tel.: (058) 293 94 95, fax: (058) 293 92 00.

30 MAART 2001:

**Boerhaave cursus: Vóórkomen en voorkómen van
pneumokokkeninfecties in de 21ste eeuw,**
De Eenhoorn, Amersfoort. Inf.: Bureau Boerhaave-commissie.
Tel.: (071) 527 64 34.

1 - 4 APRIL 2001:

**11th European Congress of Clinical Microbiology and
Infectious Diseases,**
Istanbul, Turkije. Inf.: AKM Congress Service, Basel,
Zwitserland. Tel.: +41 61 686 77 11, fax: +41 61 686 77 88,
e-mail: info@akm.ch, Internet: www.akm.ch/eccmid.

12 EN 13 APRIL 2001:

3rd Int. Symposium on Antimicrobial Agents and Resistance,
Seoul, Korea. Inf.: Secretariat ISAAR 2001, Seoul, Korea.
Tel.: +82 2 3410 0327, fax: +82 2 3410 0060, e-mail:
susan1@chollian.net.

19 - 20 APRIL 2001:

Workshop Anaerobic Bacteriology,
Manassas, Virginia, USA. Inf.: Glenda Wilson, Professional
Training and Education, School of Computational Sciences,
George Mason University. Tel.: +1 703 993 8449,
fax: +1 703 993 8401, e-mail: gwilson1@gmu.edu,
Internet: www.scs-pw.gmu.edu/workshops.

14 EN 15 MEI 2001:

The World Mycotoxin Forum,
Noordwijk. Inf.: Bastiaanse Communication, tel.: (030) 229 42 47,
fax: (030) 225 29 10, e-mail: haccp@bastiaanse-
communication.com.

20 - 24 MEI 2001:

ASM General Meeting,
Orlando, Florida, USA. Inf.: ASM Conferences, Washington DC,
USA. Tel.: +1 202 942 92 48, fax: +1 202 942 93 40,
e-mail: meetingsinfo@asmusa.org, Internet: www.asmusa.org.

12 JUNI 2001:

Bijeenkomst Nederlandse Werkgroep Klinische Virologie,
Streekziekenhuis Midden Twente, Hengelo. Inf.: Dr. J. Schirm,
Streeklab. voor de Volksgezondheid, Postbus 30039, 9700 RM
Groningen. Tel.: (050) 512 51 60, fax: (050) 527 14 88,
e-mail: schirmjsg@compuserve.com.

13 - 16 JUNI 2001:

7th Int. Workshop on Opportunistic Protists,
Cincinnati, Ohio, USA. Inf.: Edna Kaneshiro, Dept. of Biological
Sciences, University of Cincinnati. Tel.: +1 513 556 9712,
fax: +1 513 556 5280, e-mail: edna.kaneshiro@uc.edu.

23 - 27 JUNI 2001:

11th Int. Conference on Bacilli:
'Functional Genomics of Gram-Positive Microorganisms',
San Diego, Californië, USA.
Internet: www.grampositivegenomics.org.

24 - 27 JUNI 2001:

**ISSTDR/IUSTI Int. Congress on Sexually Transmitted
Infections,**
Berlijn, Duitsland. Inf.: Congress Partner, Berlijn, Duitsland.
Tel.: +49 30 2045 0041, fax: +49 30 2045 0042,
e-mail: berlin@cpb.de.

30 JUNI - 3 JULI 2001:

22nd Int. Congress of Chemotherapy (ICC),
RAI Congrescentrum, Amsterdam. Inf.: Eurocongres
Conference Management, Amsterdam. Tel.: (020) 679 34 11,
fax: (020) 673 73 06, e-mail: lcc@eurocongres.com,
Internet: http://www.eurocongres.com/lcc.

2 - 5 SEPTEMBER 2001:

Congres 'Weerstand tegen endemische infecties',
Bogor, Indonesië. Inf.: Dr. H. Snippe, Eijkman-Winkler
Instituut, UMC Go4.614, Heidelberglaan 100, 3584 CX Utrecht.
Tel.: (030) 250 76 28, fax: (030) 254 17 70,
e-mail: H.Snippe@lab.azu.nl.

2 - 5 SEPTEMBER 2001:

**Najaarsvergadering European Society for Clinical Virology
(ESCV),**
Lahti, Finland. Inf.: Dr. J. Schirm, Streeklab. voor de
Volksgezondheid, Postbus 30039, 9700 RM Groningen.
Tel.: (050) 512 51 60, fax: (050) 527 14 88, e-mail:
schirmjsg@compuserve.com, Internet: http://www.escv.org.

22 - 25 SEPTEMBER 2001:

**41st Int. Conference on Antimicrobial Agents &
Chemotherapy (ICAAC),**
Chicago, Illinois, USA. Inf.: ASM Conferences, Washington DC,
USA. Tel.: +1 202 942 92 48, fax: +1 202 942 93 40,
e-mail: meetingsinfo@asmusa.org, Internet: www.asmusa.org.

30 SEPTEMBER - 4 OKTOBER 2001:

53th Meeting of the German Society for Hygiene and Microbiology,

Aken, Duitsland. Inf.: Prof. Luetticken, Institut für Med. Mikrobiologie, Aachen, Duitsland. Tel.: +49 241 808 95 10, fax: +49 241 808 94 83, e-mail: wiss-info@dghm-2001.de, Internet: www.dghm-2001.de.

9 OKTOBER 2001:

Bijeenkomst Nederlandse Werkgroep Klinische Virologie, Streeklaboratorium Haarlem. Inf.: Dr. J. Schirm, Streeklab. voor de Volksgezondheid, Postbus 30039, 9700 RM Groningen. Tel.: (050) 512 51 60, fax: (050) 527 14 88, e-mail: schirmjsg@compuserve.com.

27 - 30 OKTOBER 2001:

2nd Int. Meeting in Antimicrobial Chemotherapy in Clinical Practice,

Genève, Italië. Inf.: Prof. Dante Bassetti, Congress Studio International, Milaan, Italië. Tel.: +39 02 3360 4949, fax: +39 02 3360 4939.

9 - 11 JANUARI 2002:

European Society for Clinical Virology (ESCV) Winter Meeting,

Londen, Engeland. Inf.: Dr. J. Schirm, Streeklab. voor de Volksgezondheid, Postbus 30039, 9700 RM Groningen. Tel.: (050) 512 51 60, fax: (050) 527 14 88, e-mail: schirmjsg@compuserve.com, internet: <http://www.escv.org>.

7 - 9 APRIL 2002:

12th Annual Scientific Meeting of SHEA,

Salt Lake City, Utah, USA. Inf.: SHEA Meetings Department, New Jersey, USA. Fax: +1 856 423 3420.

28 JULI - 2 AUGUSTUS 2002:

European Society for Clinical Virology (ESCV) Summer Meeting,

The International Congress of Virology, Paris, France. Inf.: Dr. J. Schirm, Streeklab. voor de Volksgezondheid, Postbus 30039, 9700 RM Groningen. Tel.: (050) 512 51 60, fax: (050) 527 14 88, e-mail: schirmjsg@compuserve.com, internet: <http://www.escv.org>.

JANUARI 2003:

European Society for Clinical Virology (ESCV) Winter Meeting,

Lissabon, Portugal. Inf.: Dr. J. Schirm, Streeklab. voor de Volksgezondheid, Postbus 30039, 9700 RM Groningen. Tel.: (050) 512 51 60, fax: (050) 527 14 88, e-mail: schirmjsg@compuserve.com, internet: <http://www.escv.org>.

6 - 8 APRIL 2003:

13th Annual Scientific Meeting of SHEA,

Arlington, Virginia, USA. Inf.: SHEA Meetings Department, New Jersey, USA. Fax: +1 856 423 3420.

Richtlijnen voor auteurs

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

In het tijdschrift worden zowel fundamentele als klinische aspecten van de Medische Microbiologie belicht. Daarnaast biedt het plaats voor aankondigingen van promoties e.d., evenementen en mededelingen uit de Vereniging.

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

Door het inzenden van kopij verklaart de auteur:

- dat hij/zij het recht van eenmalige publicatie overdraagt aan het *Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie*
- dat het manuscript niet eerder of te zelfde tijd aart een ander Nederlandstalig tijdschrift is aangeboden
- dat hij/zij ermee akkoord gaat dat de redactie het manuscript ter beoordeling aan adviseurs kan voorleggen
- dat met name genoemde personen die aan het tot stand komen van het manuscript hebben bijgedragen, akkoord gaan met de vermelding van hun naam
- dat hij/zij toestemming heeft verkregen voor het publiceren indien het reeds eerder gepubliceerd materiaal betreft.

Oorspronkelijk onderzoek & overzichtartikel

Hierbij wordt uitgegaan van maximaal vijf gedrukte tijdschriftpagina's inclusief samenvatting en literatuurgegevens (maximaal 3000 woorden). Het manuscript moet een Nederlandse en Engelse samenvatting bevatten van elk maximaal 200 woorden. Maximaal vijf tabellen en/of figuren. Maximaal 30 literatuurverwijzingen.

Casuïstiek

Hierbij wordt uitgegaan van drie gedrukte tijdschriftpagina's, inclusief samenvatting en literatuurgegevens (maximaal 1800 woorden). Het manuscript moet een samenvatting bevatten van maximaal 150 woorden, gevolgd door een beschouwing en een conclusie. Maximaal vijf auteurs noemen. Maximaal drie tabellen en/of figuren. Maximaal 15 literatuurverwijzingen.

Visie

Hierbij wordt uitgegaan van maximaal twee gedrukte tijdschriftpagina's (1200 woorden). Geen tabellen en/of figuren. Maximaal vijf literatuurverwijzingen. In de tekst worden referenties met nummer (in superscript) en niet met naam vermeld.

Ingezonden

In deze rubriek worden commentaren, brieven en reacties op artikelen of brieven opgenomen. Er wordt gelegenheid gegeven tot maximaal twee gedrukte tijdschriftpagina's (1200 woorden) en maximaal vijf literatuurverwijzingen.

Literatuur

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

Voorbeeld:

- 1 Meijere M de, Mervielde L, Bogaert M. Het nut van antibiotica bij acute keelpijn. *Ned Tijdschr Geneesk* 1992;136:2314-8. Voor de overige referentievormen wordt verwezen naar de 'Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals'.

Bacteriële nomenclatuur

Cursief gedrukte tekst dient in het manuscript als cursief dan wel onderstreept te worden aangegeven. Bij het voor de eerste keer noemen van de bacterienaam dient deze voluit te worden geschreven in cursief. Daarna dient de genusnaam te worden afgekort tot de eerste letter ('*S. aureus*', niet '*Staph. Aureus*'). Wanneer de naam van het genus op zichzelf wordt gebruikt zoals in 'er werden stafylokokken gevonden', of 'streptokokkeninfectie' dan wordt niet gecursiveerd. Bij specifiek gebruik van de genusnaam, bv. 'micro-organismen van het genus *Staphylococcus*' wordt wel gecursiveerd. Indien dit meervoud wordt gebruikt zoals bij '*Salmonellae*' wordt niet gecursiveerd, maar kan ook worden gekozen voor '*salmonella*'s'. In samenstellingen wordt aaneengeschreven met een verbindingsstreepje: '*Salmonella*-infecties', '*Salmonella*-species', maar zonder streepje in '*Salmonella* spp.'.

Medicamenten of farmaca dienen met generieke naam te worden vermeld.

Tabellen en figuren

Deze dienen op een apart vel in viervoud te worden aangeleverd, alsmede (indien beschikbaar) in digitale versie. Figuren dienen vakkundig te zijn vervaardigd, belettering in handschrift wordt niet geaccepteerd. De afbeeldingen moeten zoveel mogelijk contrasterend zijn. Foto's dienen als glanzende zwart-wit foto's in viervoud te worden ingezonden, verpakt in karton.

Aan de achterkant van uw illustratiemateriaal moet een etiket zijn geplakt met het nummer van de figuur of foto, de naam van de auteur, en een pijl om de bovenkant van de illustratie aan te geven. Schrijf niet direct op de achterkant van het materiaal; lever bij de figuren en foto's gaarne de onderschriften op een aparte pagina.

Op foto's van microscopische preparaten moet een lijnstuk met schaalverdeling zijn aangebracht waaruit de vergrotingsfactor kan worden afgelezen. Pijlen, letters en dergelijke moeten helder in (zwart of wit) tegen de achtergrond afsteken.

Print het manuscript op degelijk A4-papier met 2,5 cm marges en dubbele interlinie.

Begin telkens op een nieuw vel met:

- titelpagina: titel manuscript, titels namen en werkplaats van auteurs, eventuele dankbetuiging, correspondentieadres van een auteur met telefoonnummer (eventuele telefaxnummers), financiers.
- samenvatting in het Nederlands met een werktitel (max. 3 woorden); voeg drie tot tien trefwoorden toe (bv. "Medical Subject Heading (MeSH)" list of *Index Medicus*).
- Engelstalige titel, summary en keywords als boven.

Geef duidelijk aan welke delen van de tekst cursief dienen te worden gedrukt (b.v. namen van micro-organismen).

Zend het origineel en 3 deugdelijke kopieën van het manuscript inclusief tabellen en figuren, samen met de tekst op diskette (bij voorkeur in Word, evt. WordPerfect) naar het Redactiesecretariaat *Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie*, Postbus 2122, 2400 CC Alphen aan den Rijn.

Elke kopij wordt (tenminste) door de redactie beoordeeld. De redactie behoudt zich het recht voor waar nodig de stijl van het manuscript bij te stellen vanwege de uniformering voor het *Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie*.

In een separate aanbiedingsbrief dient te worden aangegeven uit hoeveel woorden de tekst, inclusief de referenties, samenvattingen en legenda's, bestaat. Tevens dienen de adressen van alle auteurs te worden vermeld; zij dienen door ondertekening aan te geven akkoord te gaan met de inhoud van het manuscript en het feit dat het wordt gepubliceerd in dit Tijdschrift.

