

Visie

Bioterrorisme en medische microbiologie

M.F. Peeters

Ingezonden**Artikelen**

Diagnostiek van hepatitis B

Ph.H. Rothbarth

Therapiebeleid bij chronische hepatitis B: interactie tussen kliniek en laboratorium

H.G.M. Niesters, R.A. de Man

Hepatitis C, een hedendaags probleem

H. van Soest, G. Boland, J. van Hattum

Oratie

Virussen & de paradox van preventie

J.M.D. Galama

Artikel

Traceren van virale voedselinfecties met behulp van een Europees netwerk

M. Koopmans, H. Vennema

Ingezonden**Rubrieken**

Werkgroepen en verenigingen

Personalia

Promoties

Agenda

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 & overzichtsartikel

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.

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. A. Fleer/ Dr. T. van Gool/
Dr. A.M. Horrevorts/Mw. L.M. Kortbeek/
Dr. J.G. Kusters/ 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 vervoelvoudigd, 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

Bioterrorisme en medische microbiologie 98

M.F. Peeters

Ingezonden

99

Artikelen

Diagnostiek van hepatitis B 100

Ph.H. Rothbarth

Therapiebeleid bij chronische hepatitis B: interactie tussen kliniek en laboratorium 104

H.G.M. Niesters, R.A. de Man

Hepatitis C, een hedendaags probleem 108

H. van Soest, G. Boland, J. van Hattum

Oratie

Virussen & de paradox van preventie 113

J.M.D. Galama

Artikel

Traceren van virale voedselinfecties met behulp van een Europees netwerk 119

M. Koopmans, H. Vennema

Ingezonden

122

Rubrieken

Werkgroepen en verenigingen 122

Personalia 124

Promoties 124

Agenda 125

Bioterrorisme en medische microbiologie

De Inspectie voor de Gezondheidszorg heeft de arts-microbioloog van Nederland middels een schrijven door de inspecteur-generaal prof. dr. J.H. Kingma op 11 oktober 2001 gevraagd "extra alert te zijn op het herkennen van bijzondere infectieziekten of clusters van bekende infectieziekten".

Om de gevolgen van een bioterroristische aanslag te beperken is snelle herkenning van bijzondere situaties van doorslaggevend belang. Door de weliswaar kleine maar toch reële dreiging van een bioterroristische daad moeten de medisch-microbiologische laboratoria erop voorbereid zijn het oorzakelijk agens snel te detecteren (laboratory preparedness).

Het outbreak managementteam (OMT)-bioterrorisme heeft bij schrijven van J.E. Degener en ondergetekende de arts-microbioloog van Nederland op 23 oktober jl. al benaderd over dit onderwerp en daarbij tevens een overzicht gevoegd van de klinische verschijnselen en laboratoriumdiagnostiek van infecties door *Bacillus anthracis*. Dit overzicht is ook te zien op de website van onze vereniging (www.nvmm.nl). Met betrekking tot de klinische herkenning van anthrax en andere infectieziekten die met bioterrorisme in verband worden gebracht wil ik u wijzen op de website van de Vereniging voor Infectieziekten (www.infectieziekten.org). Van hieruit wordt ook toegang verschaft tot nationale en internationale informatiebronnen.

De klinische verschijnselen van inhalatie-anthrax zijn dermate weinig specifiek dat het laboratorium waarschijnlijk als eerste met de diagnose zal komen.

Binnen het OMT is afgesproken dat onderzoek van niet-humaan materiaal (waaronder poeders e.d.) het best direct kan worden uitbesteed aan ID-Lelystad, volgens richtlijnen van het LCI in verband met het forensische aspect en de mogelijke juridische gevolgen. In dergelijke gevallen draagt de GGD de verantwoordelijkheid voor een ordelijk vervoer naar ID-Lelystad en rapportage aan de inzender. De aanwezigheid van virulentiegenen kan worden aangetoond op het Prins Maurits Laboratorium van TNO – Preventie en Gezondheid.

Over anthrax bestaat een LCI-protocol (www.lci.lcr.nl) met twee bijlagen, één over "maatregelen bij opgravingen in 'witte kuilen'" en één over "*Bacillus anthracis* als biologisch wapen".

Het bureau LCI heeft van de Minister de volgende opdrachten gekregen: het opstellen van een draaiboek bioterroristische aanslagen en het opstellen of actualiseren van de voor bioterrorisme relevante protocollen. Collega W.P.J. Severin zal een van de schrijvers van de protocollen zijn. OMT-leden zullen inhoudelijke ondersteuning bieden. Naast het specifieke protocol over anthrax (*B. anthracis*), pokken (variola major-virus), pest (*Yersinia pestis*), tularemie (*Francisella tularensis*), influenza (influenzavirus), brucellose (*Brucella*-species), botulisme (*Clostridium botulinum*), virale hemorrhagische koorts (filo- en arenavirussen), met bijlage bioterrorisme, dienen door onze beroepsgroep ook laboratoriumprotocollen te worden opgesteld c.q. te worden geactualiseerd.

Isolatie en determinatie van *B. anthracis* is vrij simpel, al heeft niemand er ervaring mee. *Y. pestis* en *F. tularensis* zijn in onze laboratoria onbekende micro-organismen waarvan de laboratoriumdiagnostiek niet zo eenvoudig is. De referentielaboratoria zullen hun diagnostiek op variola major en andere exotische virussen nog eens grondig moeten nakijken.

En niet alleen dat. Er worden nu wel 16 miljoen doses pokkenvaccin aangemaakt in runderen, maar iedereen kent de bijwerkingen ervan. Onderzoek zou moeten gebeuren naar het ontwikkelen van een veiliger pokkenvaccin.

Op korte termijn zou tevens moeten worden overgegaan tot de productie van hyperimmuungammaglobuline (voor de eerste opvang en voor immuungecompromitteerden).

Grote hoeveelheden ciprofloxacin in voorraad leggen is mijns inziens geen goede zaak. Als een buffer-voorraad antibiotica wordt aangelegd zou deze moeten bestaan uit een mix voor penicillines, tetracyclines, macroliden en quinolonen.

Al met al moeten wij ons voorbereiden op niet waarschijnlijke doch ook niet ondenkbare aanvallen van bioterrorisme. Voor een tijdige identificatie van zeldzame of onbekende ziekteverwekkers is een goed georganiseerd netwerk van deskundigen op het gebied van de medische microbiologie onmisbaar.

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

Medische microbiologie of Klinische microbiologie?

Naar aanleiding van de visie van de voorzitter van onze vereniging op 'Oude en nieuwe technologie'¹ en het ingezonden commentaar van de voorzitter van de beroepsbelangencommissie van de niet-registerleden² wilde ik als voorzitter van de bbc-r graag het volgende hierover opmerken.

Het specialisme medische microbiologie (voorheen laboratoriumonderzoek – hoofdvak bacteriologie) bestaat officieel meer dan 50 jaar en was voor 1992 (oprichting NVMM) georganiseerd binnen de Nederlandse Vereniging van Laboratoriumartsen (NVL) hoofdrichting bacteriologie resp. klinische chemie, waarbij de vertegenwoordigers van de laatste hoofdrichting nog maar mondjesmaat vertegenwoordigd waren.

Gedurende deze hele periode hebben artsen met het specialisme medische microbiologie gebruik gemaakt van de kennis en kunde van academisch gevormden uit andere disciplines al naar gelang op dat moment meer behoefte was aan een inbreng vanuit die discipline dan wel dat de markt van basisartsen op dat moment onvoldoende instroom genereerde om de steeds toenemende klinische behoefte te kunnen voorzien. Hierdoor zien we binnen de medische microbiologie achtereenvolgens collegae als tandarts/microbioloog, dierenarts/microbioloog, bioloog/microbioloog, chemicus/microbioloog, biochemicus/microbioloog, apotheker/microbioloog en meest recent moleculair- (micro)bioloog optreden. Al deze collegae hebben grote toegevoegde waarde aan ons specialisme geleverd en zowel de medische microbiologie als de arts-microbioloog op het huidige niveau gebracht.

Ondanks dat in periodes van krapte sommige specialismen als medisch specialisme verloren zijn gegaan (bijvoorbeeld klinische chemie) is de medische microbiologie blijven bestaan en zelfs sterker geworden, en valt het niet weg te denken uit een modern ziekenhuis. Met name is, ook elders in Europa (behalve Zweden), geen keuze gemaakt voor het in de VS en Canada vigerende model, waarbij een splitsing in klinische microbiologie door niet-artsen en internisten/infectioloog is gemaakt en dus de medisch-consultatieve taak bij de microbioloog is verdwenen.

Het is mijns inziens verkeerd om door goedbedoelende collegialiteit met de andere disciplines binnen de medische microbiologie de professionaliteit van de consult- en medebehandelingsfunctie van de arts-microbioloog in gevaar te brengen door onvoldoende scheiding en herkenbaarheid van deze functies binnen de afdeling.

Het is ook niet reëel van de andere disciplines te denken dat de benodigde medische kennis, zijnde vijf jaar geneeskunde, twee jaar co-schappen en vijf jaar specialisatie medische microbiologie, gaandeweg te verwerven is. Het nemen van medische beslissingen en dus ook het adviseren hierover vergt overzicht over alle aspecten van de geneeskunde en dus ook opleiding in deze volgens een kwaliteitsgarantie die de artsenopleiding en vervolgens de opleiding medisch specialist in de medische microbiologie biedt. Het heeft dan ook geen pas dat een 'doctor' gaat 'dokteren'.

R.G.F. Wintermans, arts-microbioloog, Voorzitter beroepsbelangencommissie registerleden van de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie, St. Franciscus Ziekenhuis, Afd. Medische Microbiologie, Boerhaavelaan 25, 4708 AE Roosendaal

Literatuur

1. Peeters MF. Oude en nieuwe technologie. Ned Tijdschr Med Microbiol 2001;9(1):2.
2. Bruggeman CA. Oude en nieuwe technologie: ook een zaak voor niet-artsen? Ned Tijdschr Med Microbiol 2001;9(3):59.

Diagnostiek van hepatitis B

PH.H. ROTHBARTH

Hepatitis-B-virus is een virus dat tijdens een infectie vrij in het bloed circuleert. Wereldwijd zijn er 400 miljoen chronische dragers met aanzienlijke morbiditeit en mortaliteit. Goede diagnostiek is daarom onontbeerlijk. Tijdens een infectie met hepatitis B komen de meeste virale eiwitten in het bloed en tijdens de convalescentie worden antistoffen tegen deze eiwitten gemaakt. De volgorde waarin de antigenen en antistoffen verschijnen, staat in het algemeen vast, maar kan wel sterk variëren, zoals in een cohort vrouwen die zijn besmet tijdens een in-vitrofertilisatie-procedure is aangetoond. Goede screening begint met bepaling van het HBsAg en het anti-HBcore, waarna – in het geval dat één van deze parameters positief is – gericht verder moet worden gezocht. Differentiatie tussen een acute en chronische infectie is meestal na onderzoek van één enkel serum niet goed mogelijk; in de regel dient een tweede serum vier tot zes weken later te worden afgenomen en onderzocht.

Trefwoorden: hepatitis-B-virus, diagnostiek

Hepatitis-B-virus: diagnostiek

Hepatitis-B-virus is een hepadnavirus dat over de gehele wereld aanwezig is. Het is in principe een humaan virus met een beperkt reservoir in primaten. Overdracht van het virus vindt gemakkelijk plaats via bloed en in mindere mate via seksueel verkeer. Een infectie met hepatitis-B-virus kan op twee manieren verlopen: als acute infectie of als chronische. De laatste infectie heeft als uiteindelijk risico leverinsufficiëntie of hepatocellulair carcinoom op een termijn van 15 tot 40 jaar na de infectie. Tijdens de chronische infectie is er soms een jarenlange fase waarbij de patiënt zeer veel viruspartikels heeft en dus zeer besmettelijk is. Of men drager wordt hangt af van gastheerfactoren: een verminderde weerstand, verworven (chemotherapie, hemodialyse) of fysiologisch (bij perinatale infectie) zijn grote risicofactoren, terwijl bij een normale volwassene het risico ongeveer vijf procent. Wereldwijd zijn er echter 400 miljoen chronische dragers, een aanzienlijk groter aantal dan het aantal met HIV besmette personen (schatting WHO: 40 miljoen).¹ Omdat bij besmetting slechts 40 procent klinisch manifest wordt, is een goede diagnostiek essentieel voor het inschatten van het infectierisico bij bloedtransfusies, bevallingen, prikaccidenten, transplantaties enz. Het feit dat – mede door de lange incubatieperiode – na expositie preventie met succes mogelijk is, maakt gevoelige diagnostiek extra belangrijk. Ook de mogelijkheid chronisch geïnfecteerden te behandelen met antivirale therapie maakt diagnostiek op maat noodzakelijk.

Bouw van het virus

Hepatitis-B-virus is een dubbelstrengs DNA-virus, waarbij één van de twee DNA-strengen korter is. Van het DNA worden vier eiwitten afgelezen, die de structuur van het virus bepalen (figuur 1).²

Figuur 1. Bouw van het hepatitis-B-virus

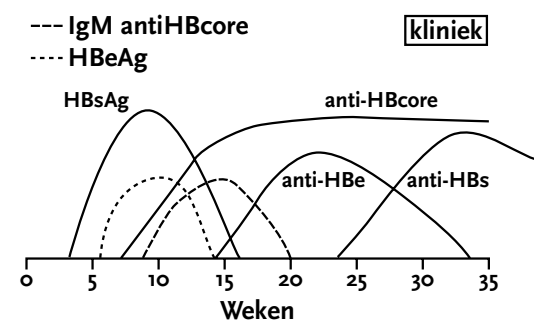


Tijdens een infectie verschijnen deze eiwitten in het bloed of worden er antistoffen tegen gemaakt. Door te bepalen of deze eiwitten of antistoffen daartegen aanwezig zijn kan worden bepaald of een persoon is besmet met hepatitis-B-virus, dan wel in weke fase van de infectie hij zich bevindt.

Verloop van een acute infectie

Hepatitis B heeft een lange incubatieperiode, gemiddeld drie maanden met een forse spreiding (35 tot 150 dagen). Bij retrospectief onderzoek kan soms na vier tot zes weken reeds virus in het bloed worden aangetoond.³ Figuur 2 laat het beloop van de virale infectie zien. De klinische verschijnselen beginnen met prodromen bestaande uit malaise, koorts, lymfadenopathie, maar soms ook verschijnselen van artritis, huidverschijnselen als urticaria of maculopapuleuze exanthenen of glomerulonefritis als uiting van neerslag van immuuncomplexen. Twee tot vier weken later volgen leverfunctiestoornissen (vooral de ALT) met of zonder icterus. Bij het begin van de prodromen wordt bij alle patiënten het HBsAg met het HBeAg, bij het begin van de hepatitis is ook het anti-HBc aantoonbaar dat, als het eenmaal is aanwezig is levenslang aanwezig blijft. Bij bestudering van immunoglobulineklasse van deze antistoffen kunnen IgM en IgG worden aangetroffen. IgM kan in de acute fase worden

Figuur 2. Verloop acute infectie met hepatitis-B-virus

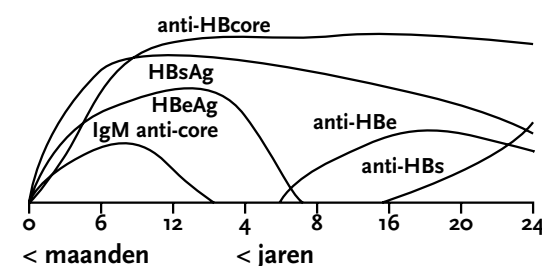


gevonden, maar is – afhankelijk van de gebruikte test – soms ook ver na de acute fase aantoonbaar.⁴ In deze acute fase kan ook HBV-DNA worden aangetoond; meestal wordt dit binnen zes weken geëlimineerd.⁵ Ook het HBeAg verdwijnt vaak in deze periode. Dit betekent ook dat het virus wordt geëlimineerd. Met het verdwijnen van het HBeAg worden meestal ook antistoffen aangetoond tegen dit eiwit (anti-HBe). Het HBsAg blijft in de regel langer aanwezig dan het HBeAg (drie tot zes maanden). Na het verdwijnen ervan worden meestal antistoffen gevormd, maar deze verschijnen pas enige tijd na het verdwijnen van het HBsAg. De aanwezigheid van anti-HBs betekent bijna altijd bescherming tegen een nieuwe infectie met hepatitis-B-virus. Reactivatie bij anti-HBs-positieve patiënten na een beenmergtransplantatie heeft echter laten zien dat er onder bijzondere omstandigheden toch uitzonderingen op deze regel mogelijk zijn.⁶ Blijkt het HBsAg langer dan zes maanden aanwezig te zijn dan spreekt men van chronische hepatitis. Een bijzondere vorm van acute hepatitis B is de fulminante hepatitis. Hierbij is de prognose zonder behandeling met levertransplantatie slecht. Bij onderzoek worden vaak weinig parameters aangetroffen, vaak is het HBsAg afwezig en is er in geringe mate anti-HBs. Het IgM-anti-HBc is achter altijd sterk positief. Meting van het IgM-anti-HBc is voor het vaststellen van de etiologie bij de fulminante hepatitis van essentieel belang als het HBsAg negatief is!

Verloop van de chronische hepatitis B

Bij een chronische hepatitis B is het verloop in principe hetzelfde als bij de acute hepatitis B, met het grote verschil dat de tijdschaal enorm is vergroot. In figuur 3 is het gemiddelde verloop van een chronische infectie te zien.

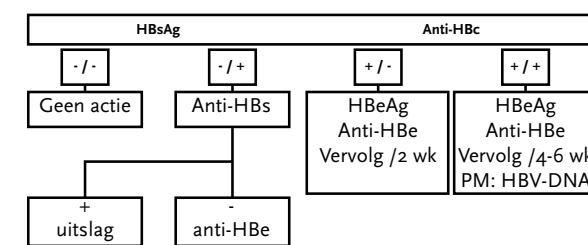
Figuur 3. Verloop chronische infectie met hepatitis-B-virus



Verskillende onderzoeken hebben aangetoond dat een spontane seroconversie optreedt van HBeAg naar anti-HBe.⁷⁻⁹ Dit vindt plaats met een frequentie van 7 tot 20 procent per jaar.¹⁰ De gemiddelde tijd dat iemand HBeAg-positief is ligt op ongeveer zeven jaar. Gedurende deze tijd heeft de patiënt een grote hoeveelheid circulerend virus en wordt de grondslag gelegd voor toekomstige leverpathologie. Differentiatie tussen een acute en chronische infectie met hepatitis B met hoge virusload is vaak niet goed te maken op grond van het onderzoek van een enkel serum; bij een dergelijke bevinding speelt ook het klinische beeld een belangrijke rol. De vaak aangeraden IgM-anti-HBc kan bij een acute infectie negatief zijn en bij een chronische infectie positief (zie later in dit overzicht). Meestal kan pas na onderzoek van een tweede serum (afgenomen vier tot zes weken later) een definitieve conclusie worden getrokken.

Bij een acute hepatitis B nemen de concentraties HBsAg en HBeAg in deze periode sterk af evenals die van het viraal DNA, terwijl bij een chronische hepatitis-B-infectie de concentratie van deze parameters niet of nauwelijks verandert. Het schema in figuur 4 laat naar de mening van de auteur de meest logische onderzoeksvolgorde zien in geval van verdenking op hepatitis-B-infectie: er wordt begonnen met de meting van het HBsAg en het anti-HBc, omdat HBsAg de eerste parameter is die na een infectie in het bloed verschijnt, terwijl het anti-HBc de parameter is die bij 98 procent van de geïnfecteerden lang na infectie kan worden gevonden. Dit is in 1988 aangetoond bij veteranen die ten gevolge van een gecontamineerd vaccin tijdens de Tweede Wereldoorlog waren besmet.¹¹

Figuur 4. Onderzoeksvolgorde bij verdenking op hepatitis B



Naar aanleiding van het diagnostisch onderzoek worden de resultaten geïnterpreteerd als aangegeven in tabel 1. De meeste uitslagen passen hier goed in, met uitzondering van een fulminante hepatitis B, waarbij het HBsAg soms ontbreekt. Ook moet bij een dergelijk ziektebeeld worden gedacht aan co-infectie met het delta-agens, een viroïd. Dit is een stukje RNA dat alleen infectieus kan zijn met behulp van een ander virus. In het geval van delta-RNA is dit andere virus het HBsAg, dus de hepatitis-B-envelop. Bij een fulminante hepatitis B wordt relatief vaak een co-infectie met het delta-agens gevonden.¹²

Een ander diagnostisch probleem wordt gevormd door het vinden van een geïsoleerd anti-HBc. Met name laag-positieve uitslagen blijken bij herhaling of bij vervolgonderzoek soms negatief te worden; in deze gevallen is bijna altijd sprake van een fout-positief resultaat.¹³ In die gevallen waarin een geïsoleerd anti-HBc wel reëel is, kan sprake zijn van het uitblijven van de aanmaak van anti-HBs, dan wel verlies van het anti-HBs. In een klein aantal patiënten blijkt bij onderzoek op HBV-DNA sprake te zijn van een latente infectie met hepatitis-B-virus. Het testen van deze sera op HBV-DNA is overigens alleen geïndiceerd als het patiënten betreft met leverfunctiestoornissen of als er mogelijk sprake is van transmissie van hepatitis B, bijvoorbeeld na een bloedtransfusie.

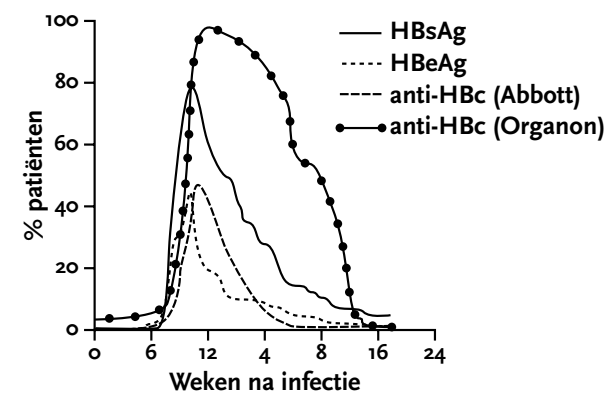
In het schema wordt het HBe-antigeen al dan niet in combinatie met het anti-HBe gemeten: de aanwezigheid van het HBe-antigeen wijst in het algemeen op actieve virusreproductie. Is het hoog-positief, dan is het niet perse nodig het anti-HBe te laten meten, hoewel het in vele laboratoria om logistieke redenen gebruikelijk is beide parameters tegelijk te bepalen. Bij afwezigheid van HBeAg samen met leverfunctiestoornissen moet rekening worden gehouden met een mutant virus dat grote leverschade kan aanrichten¹⁴⁻¹⁵; in die gevallen moet het HBV-DNA direct worden bepaald en de patiënt worden verwezen naar een internist met hepatologische ervaring.

Tabel 1. Interpretatie van serologie op hepatitis B

	GEEN INFECTIE	VROEG STADIUM ACUTE INFECTIE	FULMINANTE HEPATITIS	INFECTIE MET ACTIEVE VIRUSREPLICATIE; VERVOLGONDERZOEK KAN DIFFERENTIËREN TUSSEN ACUTE OF CHRONISCHE INFECTIE	INFECTIE ZONDER ACTIEVE VIRUSREPLICATIE; VERVOLGONDERZOEK KAN DIFFERENTIËREN TUSSEN ACUTE OF CHRONISCHE INFECTIE	CONVALESCENTIE	STATUS NA DOOR- GEMAAKTE EN GEZEEN INFECTIE	(MEESTAL): STATUS NA DOORGEMAAKTE EN GEZEEN INFECTIE; VERLIES OF GEEN AAN- MAAK VAN ANTI-HBS. (1-2%): LATENTE INFECTIE MET HBV
HBsAg	-	+	+/-	+	+	-	-	-
Anti-HBc	-	-	+	+	+	+	+	+
HBeAg		+	-	+	-			
anti-HBe		-		-	+	+		+/-
Anti-HBs							+	-
IgM-anti-HBc			++	+/-				

Het kan niet genoeg worden benadrukt dat de weergegeven curven slechts gemiddelden aangeven; in werkelijkheid is de variabiliteit relatief groot. Dit kan worden geïllustreerd met de gegevens van 53 vrouwen die accidenteel werden besmet tijdens een in-vitrofertilisatie-procedure (Figuur 5).¹⁶ Van al deze vrouwen waren sera van voor en na de procedure aanwezig. Opvallend is de variabiliteit in de duur van de aanwezigheid van HBsAg. Twee patiënten klaarden het virus nog na zes maanden en zij kunnen op dit beloop dus niet worden gedefinieerd als lijdend aan chronische hepatitis. De duur van de aanwezigheid van HBeAg was in deze groep veel homogener. De aanwezigheid IgM anti-HBc was sterk afhankelijk van de gebruikte testkit. Hierbij bleek kit 1 (Auszyme, Abbott) veel minder gevoelig dan kit 2 (Hepanostica, Organon Technica). Met laatstgenoemde kit waren echter twee sera ruim vóór het moment van infectie reeds positief. Bovendien waren de meeste sera een half jaar na de acute fase de meeste sera nog steeds positief, terwijl in de ogenschijnlijk minder gevoelige test de overgrote meerderheid niet meer reactief was. Ook bij patiënten met een chronische hepatitis B was ongeveer 25 procent positief voor hepatitis B, hoewel de extinctiewaarden – een maat voor de titer – gemiddeld veel lager waren dan bij de acute hepatitis B. In geen enkel geval ging de IgM-anti-HBc vooraf aan de anti-HBc-totaal in beide testen. Hoewel deze data uit 1988 en 1989 zijn verkregen, zijn op dit cohort ook meer recente IgM-anti-HBc-kits uitgetest, waarbij de resultaten niet noemenswaard verschilden. Gezien deze ervaringen levert de bepaling van het IgM-anti-HBc in vele gevallen geen meerwaarde op, in tegenstelling tot enkele publicaties, waar home-made kits werden gebruikt.^{17,18} Samenvattend kan worden geconcludeerd dat diagnostisch onderzoek op hepatitis B niet een eenvoudige momentopname is waarbij allerlei parameters worden gemeten, maar dat het altijd in een logisch opgebouwd diagnostisch schema moet plaatsvinden en éénpuntsmetingen vaak niet een volledige diagnose opleveren.

Figuur 5. Hepatitis-B-parameters bij 53 besmette vrouwen



Summary

Hepatitis B is a virus which circulates freely in serum during infection. Worldwide 400 million people are infected chronically with a considerable morbidity and mortality. During a hepatitis B infection, most viral proteins appear in the serum, followed by antibodies. The range in which the parameters appear is a fixed one, be it with considerable variation, as we demonstrated in a cohort of women who were accidentally infected during an *in vitro* fertilisation procedure.

A good screening procedure starts with the determination of the HBsAg together with anti-HBc. If one of these parameters is positive, more tests are warranted, in the direction of the positive parameter. Differentiation on the base of only a single serum is usually not possible. A new serum sample should be taken and investigated four to six weeks later.

Dr. Ph.H. Rothbarth, arts-microbioloog, Laboratorium Microbiologie Twente, Burg. Edo Bergsmalaan 1, 7512 AD Enschede

Literatuur

- Lee MW. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1997;337:1733-45.
- Landers TA, Greenberg HB, Robinson WS. Structure of hepatitis B Dane particle DNA and nature of the endogenous DNA polymerase reaction. *J Virol* 1977;23:368-76.
- Hoofnagle JH, Di Bisceglie AM. Serologic diagnosis of acute and chronic viral hepatitis. *Semin Liver Dis* 1991;11:73-83.
- Robinson WS. Hepatitis B and hepatitis D virus. In: Mandell GF, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and practise of infectious diseases*, 5th ed, Churchill Livingstone, Philadelphia, 2000, pp 652-86.
- Quint WG, de Bruijn I, Kruijning H, Heijtkink RA. HBV-DNA detection by gene amplification in acute hepatitis B. *Hepatology* 1990;12:653-6.
- Dhedine N, Douvin C, Kuentz M, Saint Marc MF, Reman O, Rieux C, Bernaudin F, Norol F, Cordonnier C, Bobin D, Metreau JM, Vernant JP. Reverse seroconversion of hepatitis B after allogeneic bone marrow transplantation: a retrospective study of 37 patients with pretransplant anti-HBs and anti-HBc. *Transplantation*. 1998;66:616-9.
- Fattovich G, Rugge M, Brollo L, Pontisso P, Noventa F, Guido M, Alberti A, Realdi G. Clinical, virologic and histologic outcome following seroconversion from HBeAg to anti-HBe in chronic hepatitis type B. *Hepatology* 1986;6:167.
- Realdi G, Alberti A, Rugge M, Bortolotti F, Rigoli AM, Tremolada F, Ruol A. Seroconversion from hepatitis B e antigen to anti-HBe in chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 1980;79(2):195-9.
- Nuysink M, Rothbarth PH, Bijleveld ChMA, Houwen RJH, Tolboom JJM, Sinaasappel M. Hepatitis B bij kinderen in vier universitaire centra in Nederland. *Ned Tijdschr Geneesk* 1993;137:2584-8.
- Lok AS, Lai CL, Wu PC, Leung EK, Lam TS. Spontaneous hepatitis B e antigen to antibody seroconversion and reversion in Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 1987;92:1839-43.
- Seeff LB, Beebe CW, Hoofnagle JH, Norman JE, Buskell-Bales Z, Waggoner JG, et al. A serological follow-up of the 1942 epidemic of post-vaccination hepatitis in the United States Army. *N Engl J Med* 1987;316:965.
- Smedile A, Verme G, Cargnel A, Caredda F, Cargnel A, Caporaso N, et al. Influence of delta infection on severity of hepatitis B. *Lancet* 1982;2:945-7.
- Kroes ACM, Quint WGV, Heijtkink RA. Significance of isolated hepatitis B core antibodies detected by enzyme immunoassay in a high risk population. *J Med Virol* 1991;35:96-100.
- Bonino F, Rosina F, Rizzetto M, Rizzi R, Chiaberge E, Tardanico R, et al. Chronic hepatitis in HBsAg carriers with serum HBV DNA and anti-HBe. *Gastroenterology* 1986;90:1268-73.
- Laskus T, Rakela J, Nowicki MJ, Persing DH. Hepatitis B core promoter sequence analysis in fulminant and chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1995;109:1618-23.
- Alberda ATH, Van Os HC, Zeilmaker GH, Rothbarth PH, Heijtkink RA, Schalm SW. Hepatitis B-infectie bij vrouwen behandeld met IVF. *Ned Tijdschr Geneesk* 1989;133:20-2.
- Gerlich WH, Luer W. Selective detection of IgM-antibody against core antigen of the hepatitis B virus by a modified enzyme immune assay. *J Med Virol* 1979;4:227-38.
- Gerlich WH, Uy A, Lambrecht F, Thomssen R. Cutoff levels of immunoglobulin M antibody against viral core antigen for differentiation of acute, chronic, and past hepatitis B virus infections. *J Clin Microbiol* 1986;24(2):288-93.

Therapiebeleid bij chronische hepatitis B: interactie tussen kliniek en laboratorium

H.G.M. NIESTERS, R.A. DE MAN

De mogelijkheden tot behandeling en vervolgen van patiënten met een chronische hepatitis-B-infectie nemen langzaam toe. Naast alfa-interferon, is sinds kort het nucleoside-analoon lamivudine geregistreerd. Beide middelen leiden echter in een beperkte groep tot het bereiken van het klassieke eindpunt: een blijvende HBeAg-seroconversie. De moleculair-virologische bepaling van HBV-DNA heeft een bijdrage geleverd aan het vervolgen en in kaart brengen van patiënten geïnfecteerd met HBV. Problemen als resistentie kunnen nu sneller worden opgespoord, waarbij tevens een grotere diversiteit per individuele patiënt kan worden waargenomen. De intensieve samenwerking tussen behandelaar en virologisch laboratorium levert een essentiële bijdrage aan het therapiebeleid, waarbij de individuele patiënt en zijn virale status centraal staan.

Trefwoorden: hepatitis B, hepatitis-B-virus, virale load, virologische monitoring

De sterfte als gevolg van een chronische hepatitis-B-virus-infectie wordt voornamelijk bepaald door de complicaties van cirrose: falen van de leversynthesefunctie, hepatocellulair carcinoom en complicaties van portale hypertensie. Bij een chronische infectie is het HBV oppervlakte-antigeen van hepatitis-B-virus (HBV), het HBsAg, in het serum aanwezig. Bij een actieve virale replicatie is ook het virale DNA (HBV-DNA) aantoonbaar, waarbij waarden van 10^6 genoomequivalenten per milliliter (geq/ml) en hoger te meten zijn. Tevens is bij de meeste patiënten het hepatitis-B-e-antigeen (HBeAg) aantoonbaar. Bij een immunologische reactiviteit van de gastheer tegen het virus zullen er biochemische en histologische kenmerken van ontstekingsactiviteit worden gevonden: verhoogde serumtransaminasen en ontstekingsinfiltraten in de leverbiopsie.

Op basis van deze gegevens komen alle patiënten bij wie zowel HBsAg- als HBeAg-positief zijn en alle HBsAg-positieve patiënten met verhoogde serumtransaminasen in aanmerking voor een nadere evaluatie van hun chronische leverziekte. Deze laatste groep is redelijk heterogeen en bevat zowel patiënten met een pre-core mutant HBV-infectie (HBeAg-negatief maar veelal hoge HBV-DNA-waarden), als die met een co-infectie met hepatitis C of hepatitis Delta en patiënten met een tweede leverziekte (vaak op metabole of toxische basis). Binnen de groep HBeAg-negatieve patiënten kan het meten van aspartaat-aminotransferase (ASAT) gebruikt worden om de aanwezigheid van actieve leverziekte (portale en periportale ontsteking) aan te tonen.¹

De behandeling van een chronische HBV-infectie is erop gericht de infiltrerende lymfocyten uit de lever te laten verdwijnen, met als gevolg dat de serumtransaminasen normaliseren. Dit proces volgt de natuurlijke ontwikkeling van de ziekte die bij gunstig beloop wordt gekenmerkt door een verlaging van de virale replicatie, het verlies van HBeAg en de ontwikkeling van antistoffen (anti-HBe). Het hele proces

is beter bekend als HBeAg-seroconversie. Antivirale therapie probeert dit proces te versnellen en een verlies van meetbare virale antigeenproductie (HBsAg-seroconversie) te bereiken voordat aanzienlijke, irreversibele leverschade is opgetreden.² Zelfs bij patiënten met een reeds gedecompenseerde leverziekte kan bij succesvolle antivirale therapie functieherstel van de lever optreden.³

Behandeling van chronische HBV-infectie

Er zijn in Nederland twee antivirale middelen geregistreerd om een chronische HBV-infectie te behandelen, te weten interferon alfa (IntronA[®], Roferon[®]) en lamivudine (Zeffix[®]).

Interferon alfa. Recombinant interferon alfa is sinds begin jaren negentig geregistreerd als standaardbehandeling voor chronische hepatitis B bij patiënten met een actieve virus-replicatie. Het werkingsmechanisme van interferon is ten minste driedig: er is een direct antiviraal effect omdat ribonucleases worden geactiveerd die viraal mRNA kunnen afbreken; interferon brengt nog niet geïnfecteerde hepatocyten in een zogenaamde "antivirale status"; en er is een belangrijke immunomodulerende werking: een toename van de expressie van HLA klasse-I-antigenen op de membraan van HBV-geïnfecteerde hepatocyten die daardoor kunnen worden opgeruimd door de cellulaire afweer.

Patiënten met een actieve virus-replicatie (dus HBeAg- en HBV-DNA-positief) en biochemische tekenen van ontstekingsactiviteit (verhoogde serumtransaminasen) komen met name in aanmerking voor interferontherapie. Bij 25 tot 40 procent van hen bewerkstelligt interferon een HBeAg-seroconversie, ten opzichte van 5 tot 10 procent in een placebo-groep.^{4,5} Vervolgonderzoeken hebben inmiddels aangetoond dat deze seroconversie niet alleen frequent wordt gevolgd door een normalisering van de serumtransaminasen en een volledige virus-eradicatie (HBsAg-seroconversie), maar ook resulteert in een significante verbetering van de overleving

van chronische hepatitis-B-patiënten met cirrose.⁶⁻⁹ Hoe kan het resultaat van deze interferontherapie nog verbeterd worden? De standaard interferonbehandeling duurt 16 weken, waarbij driemaal per week 10 miljoen IE subcutaan worden toegediend. Een eerste mogelijkheid is combinatie-therapie. Met uitzondering van de combinatie met lamivudine zijn de resultaten tot nu toe teleurstellend, bovendien is de toxiciteit aanzienlijk.^{4,10} Een tweede mogelijkheid is te wachten met de behandeling tot het stadium waarin de kans op succes het grootst is. Uit vele onderzoeken is gebleken dat patiënten met een lage graad van virus-replicatie (dus laag HBV-DNA in serum) en hoge mate van ontstekingsactiviteit (ASAT, ALAT), de beste kansen op een succesvolle behandeling hebben.^{4,11} Verlenging van de behandeling met enkele maanden bij patiënten die na 16 weken nog een lage graad van virus-replicatie laten zien, leidt ook tot een hoger HBeAg-seroconversiepercentage.¹² Interferontherapie bij patiënten met een gedecompenseerde levercirrose wordt, gezien het hoge risico op toxiciteit, slechts in uitzonderingsgevallen toegepast.¹³ De toxiciteit van interferon kan soms langdurige behandeling in de weg staan en leidt bij ongeveer 30 procent van de patiënten tot een dosisreductie. Initieel zijn er voornamelijk griepverschijnselen. Later overheersen gastro-intestinale stoornissen, beenmergtoxiciteit, inductie van autoimmuunziekten en neuropsychiatrische klachten, variërend van apathie en concentratiestoornissen tot ernstige depressie, psychose en epileptische aanvallen.¹⁴ Een nieuwe ontwikkeling betreft het gebruik van interferon gekoppeld aan een drager waardoor de injectiefrequentie tot éénmaal per week kan worden teruggebracht, het zogenaamde "pegylated interferon".

Lamivudine. Lamivudine is recentelijk in Nederland geregistreerd (Zeffix[®]) voor de behandeling van een actieve chronische hepatitis-B-infectie. Het middel is een klassieke ketenterminator. Na opname in de hepatocyt moet het middel eerst door cellulaire kinases worden omgezet in het actieve trifosfaat waarna het kan worden ingebouwd in de virale keten. Behandeling met lamivudine gedurende zes maanden resulteerde in een reductie van meetbaar virus van meer dan 99 procent in het merendeel van de patiënten; dit betekende dat de virale HBV-DNA-waarde onder de 10^6 kopieën per ml kwam. Slechts bij 20 tot 30 procent van de behandelde patiënten was het HBV-DNA niet meer detecteerbaar met de PCR-techniek. Daarnaast was er een verbetering in biochemische ontstekingsactiviteit waar te nemen, de serumtransaminasen (ASAT, ALAT) normaliseerden in ongeveer de helft van de patiënten. Deze bevindingen werden ook histologisch bevestigd; leverbiopten genomen tijdens de behandeling vertoonden een reductie van ontstekingsactiviteit.¹⁵ Met name interface-hepatitis, dat wordt gezien als de belangrijkste voorspeller van een zich ontwikkelende cirrose, verminderde significant gedurende therapie. Grootschalig Chinees onderzoek beschrijft behandeling van chronische hepatitis-B-patiënten gedurende drie jaar met een olopend HBeAg-seroconversie-percentage tot 40 procent na drie jaar. De grootste kans op seroconversie bestaat overigens bij verhoogde transaminasen bij start van de therapie. Er wordt beweerd dat deze seroconversie blijvend is in 73 procent van de patiënten bij wie na een of twee jaar werd gestopt met behandeling. Gegevens uit vervolgonderzoek moeten deze bevindingen echter nog bevestigen.

Een nadeel van de behandeling is het optreden van mutaties in het polymerase-gen van het hepatitis B virus waardoor het lamivudine een sterk verminderde affiniteit heeft voor inbouw in de virale keten.^{16,17} Fase-III-onderzoeken laten een cumulatieve tijdsafhankelijke mutatiefrequentie zien van 14 tot 25 procent na één jaar tot 55 procent na drie jaar behandeling. Een gedeelte van de behandelde patiënten heeft echter ondanks de aanwezigheid van varianten een lagere virale HBV-DNA-load en lagere transaminasewaarden dan bij aanvang van de behandeling. Een probleem is dat na het ontstaan van een variant-virus en het vervolgens stoppen van behandeling, een ernstige reactivatie van de ontsteking (een zogenaamde "flare up") kan worden uitgelokt waarbij in het serum voornamelijk het oorspronkelijke onveranderde virus wordt aangetroffen. Lamivudine heeft namelijk geen direct effect op het meest resistente deel van het virus in de hepatocyt, het cccDNA in de nucleus. Het virus zal daarom direct na het staken van de lamivudinebehandeling in het grootste deel van de patiënten wederom actief repliceren. Bij patiënten die al een bestaande verminderde restcapaciteit van de lever hebben, kan dit tot morbiditeit en mortaliteit leiden. Het is dan ook de vraag of de behandeling met lamivudine ondanks het gunstige veiligheidsprofiel moet worden gecontinueerd wanneer resistentie is vastgesteld. De combinatie van lamivudine en interferon biedt misschien een betere therapeutische mogelijkheid.^{10,18} De waarde van een dergelijke combinatietherapie wordt op dit moment in Europees verband in verschillende centra verder onderzocht.

Virologische monitoring

Regelmatig vervolgonderzoek van patiënten die in het Dijkzigt Ziekenhuis gedurende lange tijd met lamivudine worden behandeld, laat een sterk individueel verschil zien in reactie op therapie. Dit verschil wordt pas detecteerbaar indien kwantificeerbare en gevoelige testen worden gebruikt. HBV neemt vanuit de virologische monitoring van DNA in serum gezien een opmerkelijke positie in. Het grote dynamische bereik dat betrouwbaar moet worden gemeten loopt vanaf 10^9 tot 10^{10} HBV-DNA-kopieën in patiënten met een actieve HBV-replicatie tot "niet detecteerbaar" gedurende antivirale therapie. De eerste kwantitatieve technieken die beschikbaar waren en ook nu nog in allerlei klinische onderzoeken worden gebruikt, waren uitsluitend hybridisatie-technieken, zoals de test van Genostics (Abbott Diagnostics) en de bDNA-test (Bayer Diagnostics). De gevoeligheid van deze technieken is in de standaard-uitvoering niet voldoende om patiënten adequaat en volledig te vervolgen. De Genostics test bleek zelfs genotype-afhankelijk te zijn. Momenteel zijn alle problemen uit de beginperiode van de kwantitatieve technieken ook voor HBV opgelost. De testen zijn robuust en genotype-onafhankelijk, en de standaardisatie is mede door inzet van de EUROHEP-groep aanzienlijk verbeterd. De introductie van internationale WHO-standaarden kan beschouwd worden als een voltooiing van dit proces. De doelstelling van antivirale therapie bij HBV is het reduceren van virale replicatie tot zo'n laag niveau dat progressie van ziekte niet optreedt of dat HBeAg-seroconversie plaatsvindt. Patiënten die seroconverteren of al langere tijd anti-HBeAg-antistoffen bezitten, kunnen bij HBV dan ook een relatief lage virale DNA-waarde van 10^4 tot 10^5 kopieën per ml hebben.

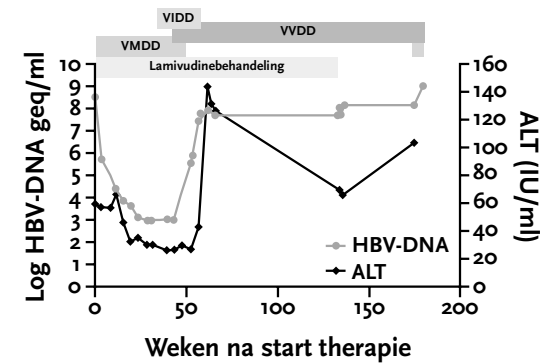
Het vervolgen van het grote dynamische bereik waarin HBV-DNA aantoonbaar is, kan met behulp van een real-time-HBV-techniek in een enkel serummonster worden bepaald, zonder dat hiervoor meer verdunningen noodzakelijk zijn.¹⁹ Uiteindelijk zullen commerciële testen beschikbaar komen die op deze techniek gebaseerd zijn. Om de HBV-DNA-waarde in serum te meten worden nu vaak twee technieken naast elkaar gebruikt. In het gebied met een hoge virale load (boven de 500.000 kopieën per ml) kan men een standaard signaal-amplificatietechniek als de bDNA (vanaf 700.000 kopieën per ml) of de Digene Hybrid Capture gebruiken (Digene Diagnostics, in Nederland vertegenwoordigd door Abbott Diagnostics, vanaf 200.000 kopieën per ml). Beide testen kunnen betrouwbaar tot 10⁹ kopieën per ml meten. Bij hogere waarden dient een verdunningsstap te worden gebruikt. In het lagere gebied (lager dan 1.000.000) is een kwantitatieve PCR-techniek (Roche Diagnostics, tot ongeveer 1.000 kopieën per ml) of een Hybrid Capture-techniek (tot 10.000 kopieën per ml) mogelijk.²⁰ De laatste test vereist in dit geval wel een grote hoeveelheid serum als uitgangsmateriaal. De meest gevoelige test is een kwalitatieve in-house PCR-test die tot 200 kopieën kan meten.

Het kwantitatief vervolgen van patiënten met behulp van DNA-technieken is niet alleen van belang om de hoeveelheid virus nauwkeurig vast te kunnen stellen en keuzes voor antivirale therapie te kunnen maken; patiënten die antivirale middelen krijgen worden ook frequent vervolgd om zo spoedig mogelijk eventuele aanwijzingen voor resistentie op te kunnen sporen. Het nauwkeurig kwantitatief meten van HBV-DNA is hiervoor van essentieel belang. Het is gebleken dat resistentie tegen lamivudine door een stijging van de virale HBV-DNA-waarde geruime tijd eerder (tot 14 weken) is waar te nemen dan een toename van ALAT. Het eerder kunnen detecteren van varianten van HBV kan tot het gebruik van andere antivirale middelen leiden (Adefovir of Entecavir). Overigens zullen niet alle patiënten die een HBV-variant ontwikkelen een toename aan HBV-DNA laten zien. De combinatie van het meten van HBV-DNA met technieken die varianten aan kunnen tonen, zoals een Line Probe-assay of een RFLP-techniek, wordt momenteel geëvalueerd. De klinische consequenties van de gevonden resistentiepatronen worden in de komende periode verder uitgewerkt in een therapiebeleid (het zogeheten "disease management model").

Het detecteren van varianten is dynamischer dan oorspronkelijk werd verondersteld. Het patroon is bij iedere patiënt weer anders, doordat meer varianten tegelijkertijd al of niet in combinatie met wildtype-virus kunnen voorkomen. Een voorbeeld van het vervolgen van een patiënt onder lamivudine-therapie in combinatie met resistentiebepaling is weergegeven in *Figuur 1*. Hierbij zijn de veranderingen in het zogenoemde YMDD-motief van het polymerase-gen in relatie tot veranderingen in HBV-DNA en ALAT-waarden getoond. Gedurende therapie is een ALAT-stijging waar te nemen nadat het HBV-DNA reeds duidelijk in het serum is toegenomen. Opmerkelijk is dat het na het stoppen van therapie geruime tijd duurt voordat het wildtype-HBV weer aantoonbaar is in het serum van de patiënt. Door virusvarianten te detecteren in

combinatie met het kwantitatief aantonen van viraal HBV-DNA wordt de individuele patiënt beter in kaart gebracht en kan zijn antivirale therapie hierop worden afgestemd. Een intensieve samenwerking tussen het virologisch laboratorium en de behandelaar is hiervoor vanzelfsprekend vereist.

Figuur 1. Resistentiepatroon van HBV-varianten gedurende lamivudine-therapie.



HBV-DNA is gekwantificeerd met behulp van een TaqMan PCR-test. Het resistentiepatroon is bepaald met een Inno Lipa DR-test (Innogenetics, Gent). Deze patiënt is gedurende 132 weken behandeld met lamivudine. Specifiek is gekeken naar veranderingen in het zogenaamde YMDD-motief van het polymerase-gen, dat een centrale rol speelt bij de binding van lamivudine aan het HBV-DNA. Veranderingen in dit motief, zoals een mutatie van methionine in valine of isoleucine (dus YMDD veranderd in YVDD of YIDD), zorgt voor een verminderde incorporatie van lamivudine in het HBV-DNA. Hierdoor zal de replicatie van HBV kunnen toenemen, in ons voorbeeld gevolgd door een toename van ALAT. Na het stoppen van therapie is het oorspronkelijk HBV met wildtype YMDD-motief pas na 40 weken in het serum aantoonbaar. De YVDD-variant van HBV is na het stoppen van therapie duidelijk aanwezig.

Summary

There are increasing therapeutic possibilities in treating and monitoring patients chronically infected with hepatitis B virus. Currently, both alpha interferon and lamivudine are registered treatment modalities. However, both therapies only lead to e-seroconversion in a small subset of patients. The possibilities to detect accurate HBV DNA levels enables us to monitor patients optimally and to make decisions on treatment protocols relating to HBV viraemia. Resistance to antiviral therapy can now be detected more easily. It should however be kept in mind that differences can be observed between individual patients. The intense collaboration between the clinical practice and the virological laboratory enables to actually introduce the concept of disease management, which puts the individual patient and the individual virus population in a central picture.

Dr. H.G.M. Niesters, moleculair bioloog, Afdeling Virologie,

Dr. R.A. de Man, maag- darm en leverarts, Afdeling Maag, Darm en Leverschikten,

beiden Academisch Ziekenhuis Rotterdam, Dr. Molewaterplein 40, 3015 GD Rotterdam

Literatuur

- Borg F ter, Kate F J ten, Cuypers HT, Leentvaar-Kuijpers A, Oosting J, Wertheim-van Dillen PM, et al. Relation between laboratory test results and histological hepatitis activity in individuals positive for hepatitis B surface antigen and antibodies to hepatitis Be. *Lancet* 1998;351:1914-8.
- Lee WM. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1997;337:1733-45.
- Lin SM, Sheen IS, Chien RN, Chu CM, Liaw YF. Long-term beneficial effect of interferon therapy in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 1999;29:971-5.
- Perrillo RP, Schiff ER, Davis GL, Bodenheimer HC Jr, Lindsay K, Payne J, et al. A randomized, controlled trial of interferon alfa-2b alone and after prednisone withdrawal for the treatment of chronic Hepatitis B. The Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med* 1990;323:295-301.
- Wong DK, Cheung AM, O'Rourke K, Naylor CD, Detsky AS, Heathcote J. Effect of alpha-interferon treatment in patients with hepatitis Be antigen-positive chronic hepatitis B. A meta-analysis. *Ann Intern Med* 1993;119:312-23.
- Fattovich G, Giustina G, Realdi G, Corrocher R, Schalm SW. Long-term outcome of hepatitis Be antigen-positive patients with compensated cirrhosis treated with interferon alfa. *European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP)*. *Hepatology* 1997;26:1338-42.
- Lau DT, Everhart J, Kleiner DE, Park Y, Vergalla J, Schmid P, et al. Long-term follow-up of patients with chronic hepatitis B treated with interferon alfa. *Gastroenterology* 1997;113:1660-7.
- Niederer C, Heintges T, Lange S, Goldmann G, Niederer CM, Mohr L, et al. Long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with interferon alfa for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1996;334:1422-7.
- Jongh FE de, Janssen HL, Man RA de, Hop WC, Schalm SW, Blankenstein M van. Survival and prognostic indicators in hepatitis B surface antigen-positive cirrhosis of the liver. *Gastroenterology* 1992;103:1630-5.
- Schalm SW, Heathcote J, Cianciara J, Farrell G, Sherman M, Willems B, et al. Lamivudine and alpha interferon combination treatment of patients with chronic hepatitis B infection: a randomised trial. *Gut* 2000;46:562-8.
- Krogsgaard K, Christensen E, Bindslev N, Schalm S, Andersen PK, Ring-Larsen H. Relation between treatment efficacy and cumulative dose of alpha interferon in chronic hepatitis B. *European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP)*. *J Hepatol* 1996;25:795-802.
- Janssen HL, Gerken G, Carreno V, Marcellin P, Naoumov NV, Craxi A, et al. Interferon alfa for chronic hepatitis B infection: increased efficacy of prolonged treatment. The European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP). *Hepatology* 1999;30:238-43.
- Janssen HL, Brouwer JT, Nevens F, Sanchez-Tapias JM, Craxi A, Hadziyannis S. Fatal Hepatic Decompensation associated with interferon alfa. *European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP)*. *BMJ* 1993;306:107-8.
- Janssen HL, Brouwer JT, Mast RC van der, Schalm SW. Suicide associated with alpha-interferon therapy for chronic viral hepatitis. *J Hepatol* 1994;21:241-3.
- Honkoop P, Man RA de, Zondervan PE, Schalm SW. Histological improvement in patients with chronic hepatitis B virus infection treated with Lamivudine. *Liver* 1997;17:103-6.
- Niesters HG, Honkoop P, Haagsma EB, Man RA de, Schalm SW, Osterhaus AD. Identification of more than one mutation in the hepatitis B virus polymerase gene arising during prolonged Lamivudine treatment. *J Infect Dis* 1998;177:1382-5.
- Honkoop P, Niesters HG, Man RA de, Osterhaus AD, Schalm SW. Lamivudine resistance in immunocompetent chronic hepatitis B. incidence and patterns. *J Hepatol* 1997;26:1393-5.
- Mutimer D, Naoumov N, Honkoop P, Marinos G, Ahmed M, Man RA de, et al. Combination alpha-interferon and Lamivudine therapy for alpha-interferon-resistant chronic hepatitis B infection: results of a pilot study. *J Hepatol* 1998;28:923-9.
- Pas SD, Fries E, Man RA de, Osterhaus AD, Niesters HG. Development of a quantitative real-time detection assay for hepatitis B virus DNA and comparison with two commercial assays. *J Clin Microbiol* 2000;38:2897-901.
- Niesters HG, Krajdin M, Cork L, Medina M de, Hill M, Fries E, et al. A multicenter study evaluation of the Digene Hybrid Capture II signal amplification technique for detection of hepatitis B virus DNA in serum samples and testing of EUROHEP standards. *J Clin Microbiol* 2000;38:2150-5.

Hepatitis C, een hedendaags probleem

H. VAN SOEST, G. BOLAND, J. VAN HATTUM

Ondanks recent verbeterde resultaten is de behandeling van chronische hepatitis C nog een groot probleem. Monotherapie met interferon alfa behaalde een sustained virologische respons (SVR) van slechts 20 procent. Door combinatie van interferon alfa met ribavirine worden hogere slagingspercentages behaald (31 tot 47 procent). De kans van slagen van de antivirale therapie is zowel afhankelijk van virusgerelateerde eigenschappen zoals genotypering en aantal virusdeeltjes in het serum, als van patiëntgebonden factoren als leeftijd, geslacht en leverhistologie. Door middel van onderzoek naar de dynamiek en kinetica van het hepatitis-C-virus, waarbij wordt gekeken naar de daling van het aantal virusdeeltjes na starten van de therapie, zijn nieuwe inzichten in de behandeling van chronische hepatitis C ontstaan, zoals inductietherapie en de toepassing van PEG-interferon.

Trefwoorden: hepatitis C, virale dynamiek

Het hepatitis-C-virus (HCV) is een RNA-virus waarvan het genoom bestaat uit een positieve RNA-streng met envelop. Het behoort tot de familie van de flaviviridae. Het virus is in 1989 ontdekt door Houghton en collega's, maar werd voor die tijd al beschouwd als de belangrijkste oorzaak van post-transfusie-hepatitis (non-A-non-B-hepatitis).

Het HCV wordt met name parenteraal overgedragen; de meeste patiënten zijn dan ook patiënten die in het verleden (voor 1991) bloedproducten hebben ontvangen of (ex) intraveneuze druggebruikers. Door routinescreening van bloed-donoren is de kans op infectie middels bloedtransfusies gereduceerd tot nagenoeg nul. Andere risicofactoren voor het verkrijgen van een HCV-infectie zijn tatoeages, acupunctuur, gezamenlijk gebruik van tandenborstels en scheermesjes en de zogenoemde prikaccidenten in de gezondheidszorg. Seksuele overdracht en verticale transmissie, van moeder op kind bij de geboorte, zijn laag.

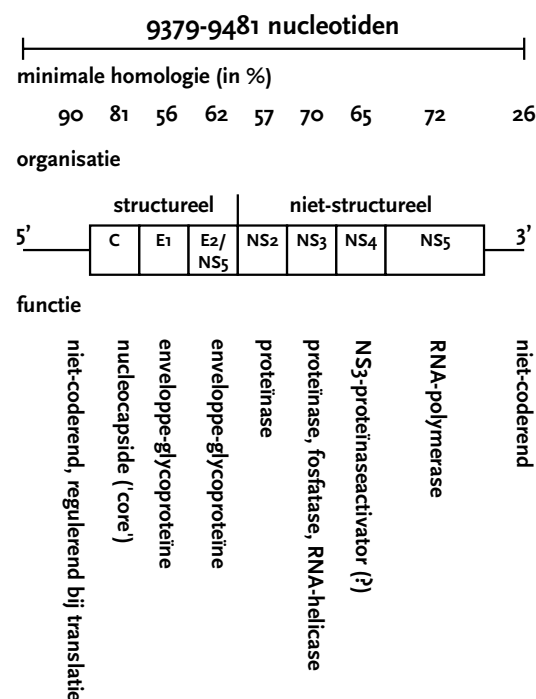
Het HCV-genoom bestaat uit ongeveer 9.600 nucleotiden met één open reading frame van 9.000 nucleotiden lang. Aan beide zijden van dit open reading frame bevinden zich de zogeheten ongetransleerde regionen. Via translatie van het open reading frame ontstaat een polyproteïne van ongeveer 3.000 aminozuren dat codeert voor ten minste tien structurele of non-structurele eiwitten (figuur 1). Voor een gedetailleerde beschrijving in het Nederlands van het genoom van het hepatitis-C-virus verwijzen we naar een eerdere publicatie in het Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde.¹

HCV

Een kenmerk van het HCV is de zogenoemde genetische heterogeniteit. Er bestaan zes verschillende genotypen en meer dan 100 verschillende subtypes (figuur 2).² De classificatie in genotype is gebaseerd op stabiele en karakteristieke mutaties die zich hebben voorgedaan in het virale genoom. Er wordt aangenomen dat deze viruseigenschappen nauwelijks veranderen.

In de Westerse wereld komen met name genotypen 1, 2 en 3 voor terwijl in Afrika met name type 4 wordt gezien. Genotype 5 wordt nagenoeg alleen gevonden in Zuid-Afrika

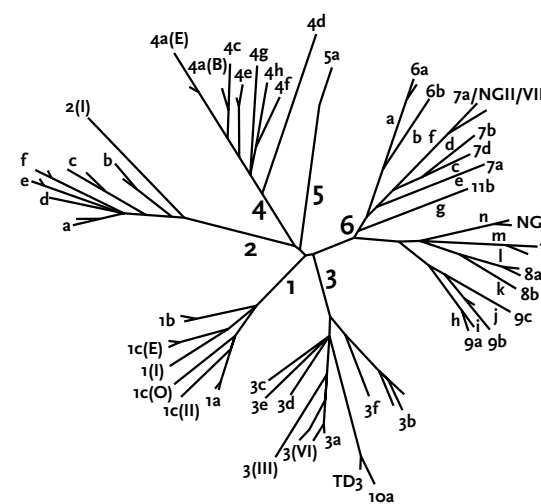
Figuur 1. Schematische voorstelling van het hepatitis-C-genoom. Veronderstelde functie per regio weergegeven. Bron: referentie 41.



en genotype 6 voornamelijk in Zuidoost-Azië. De prevalentie van de subgroepen kan binnen hetzelfde geografische gebied variëren. Zo komt genotype 3a veel voor onder intraveneuze druggebruikers in de Westerse wereld.

Tot op heden is er nog geen bruikbare vaccinatie tegen het HCV gevonden en door de complexe eigenschappen van het virus met onder andere vorming van quasi-species, niet-stabiele, niet-karakteristieke variaties in de hypervariabele regio, zal dit naar verwachting ook nog niet op korte termijn worden gerealiseerd.

Figuur 2. Fylogenetisch model van de hepatitis-C-genotypen en hun subtypen, op basis van de nucleïnezuursequenties in de NS 5-regio. Er bestaan zes hoofdgroepen: genotype 1 t/m 6. Elke hoofdgroep bevat een aantal nauw gerelateerde subtypen. Bron: referentie 42.



Klinische verschijnselen van hepatitis C

Tijdens de acute fase van een infectie met het HCV ondervindt slechts 20-25 procent van de patiënten (aspecifieke) symptomen zoals moeheid, malaiseklachten, misselijkheid, pijn in de rechter bovenbuik en in een minderheid van de gevallen is er sprake van icterus.

Een eerste teken van een hepatitis-C-infectie is de aanwezigheid van HCV-RNA in het serum ongeveer één week na het oplopen van de infectie. Antilichamen tegen het HCV ontstaan zeven tot acht weken later.³ Stijging van de alanine-aminotransferase (ALAT) treedt vlak voor het ontstaan van de klinische symptomen op. Bij patiënten met een self-limiting acute hepatitis C wordt de ALAT weer normaal en verdwijnt het HCV-RNA uit het bloed. Echter, in circa 80 procent van de gevallen is het afweersysteem van de patiënt niet in staat het virus adequaat uit het lichaam te klaren en ontstaat er een chronische hepatitis C. Naar schatting zijn wereldwijd minstens 170 miljoen mensen chronisch geïnfecteerd met het hepatitis-C-virus.⁴ De prevalentie van chronische hepatitis C verschilt per regio; in West-Europa zijn circa vijf miljoen mensen chronisch drager van het HCV.⁴

Net als in de acute fase treden er in de chronische fase van de hepatitis-C-infectie vaak weinig specifieke symptomen op zoals moeheid, misselijkheid, verminderde eetlust, artralgie, myalgie, gewichtsverlies en af en toe koorts. Een deel van de patiënten is zich dan ook niet bewust van hun infectie en de infectie wordt vaak door screening voor bijvoorbeeld bloed-donatie ontdekt.

Chronische infectie met het HCV kan bij 20-30 procent van de gevallen resulteren in levercirrose na 10 tot 20 jaar infectie.^{5,6} Hiermee is chronische hepatitis C gekenmerkt als een groot, wereldwijd gezondheidsprobleem met complexe en dure morbiditeit, een afname in de kwaliteit van leven en een aanzienlijke mortaliteit. In de westerse wereld is HCV verantwoordelijk voor 20 procent van de gevallen van acute hepatitis, 70 procent van de gevallen van chronische hepatitis, 40 procent van de gevallen van leverziekte in het eindstadium, 60 procent van de gevallen van hepatocellulair carcinoom en 30 procent van de levertransplantaties.⁷

HCV kan behalve de lever een aantal andere organen, direct

of indirect, aantasten. Met name het voorkomen van mixed cryoglobulinaemie (circuleren van complexen van polyclonaal IgG gemengd met óf monoklonale óf polyklonale IgM-reumafactoren) wordt geassocieerd met HCV-infectie.⁸⁻¹⁰ Mixed cryoglobulinaemie wordt geassocieerd met membrano-proliferatieve glomerulonefritis, purpura van de huid, artralgie, malaise, lymfoproliferatieve aandoeningen, acute en chronische infecties en auto-immuunafwijkingen.¹¹

Diagnostiek

Een huidige of in het verleden doorgemaakte infectie met het HCV wordt in eerste instantie aangetoond door het vinden van positieve antistoffen in een ELISA-test. Wanneer deze antistoffen voor de eerste keer worden aangetoond, is het aan te raden om een confirmatieassay zoals een immunoblot uit te voeren om valspositieve uitslagen van de ELISA op te sporen. Bij deze confirmatietest wordt gekeken of er tegen enkele antigenen van het HCV specifieke antistoffen aanwezig zijn. De antistoffen tegen het HCV blijven levenslang aantoonbaar, zowel bij patiënten die chronische hepatitis C hebben als bij personen die een HCV-infectie hebben doorgemaakt maar spontaan of na behandeling zijn genezen. Chronische hepatitis C wordt gekenmerkt door de persistente aanwezigheid van HCV-RNA in het serum.

In onze praktijk wordt een HCV-RNA-test alleen uitgevoerd bij patiënten met positieve antistoffen en verhoogde transaminasen, omdat deze patiënten in aanmerking komen voor antivirale therapie.

Bij patiënten met positieve antistoffen maar geen verhoogde transaminasen worden de transaminasen drie- à viermaal per jaar bepaald, en bij verhoging volgt een HCV-PCR.

Bij een positieve HCV-RNA-test is er sprake van een actieve virusreproductie, een voorwaarde om te starten met antivirale therapie.⁷

De kwantitatieve HCV-PCR-bepaling, uitgevoerd voordat de antivirale therapie wordt gestart, kan worden gebruikt voor het bepalen van de uitgangswaarde van de virale load. Deze kwantitatieve test kan tevens worden gebruikt voor het monitoren van het effect van de antivirale therapie. In praktijk echter voldoet hiervoor de kwalitatieve HCV-PCR (deze heeft een lagere detectiegrens dan de kwantitatieve PCR) en kan met deze test een (sustained) virologische respons worden aangetoond dan wel uitgesloten.

Therapie

De basis van de tot nu toe toegepaste behandelmethoden van chronische hepatitis C is interferon alfa, een eiwit bestaande uit 165 aminozuren, dat wordt bereid via recombinant DNA-technologie, waarbij gebruik is gemaakt van genetisch gemanipuleerde *E. coli*-stammen. Het precieze werkingsmechanisme van interferon alfa bij de behandeling van chronische hepatitis C is nog niet opgehelderd. Men veronderstelt dat een complexe reeks intracellulaire reacties verantwoordelijk is voor de onderdrukking van virusreproductie in virusgeïnfecteerde cellen, gepaard met immunomodulerende activiteit zoals verhoging van de fagocytose door macrofagen en toename van specifieke cytotoxiciteit van lymfocyten voor geïnfecteerde 'target'-cellen.

De eerste resultaten van interferon-monotherapie waren teleurstellend: minder dan 20 procent van de patiënten behandeld met interferon alfa driemaal per week had een sustained virologische respons, gedefinieerd als het niet

meer kunnen aantonen van HCV-RNA in het serum een half jaar na het staken van de medicatie.¹² Er werd echter wel een initiële biochemische en virologische respons gevonden van 40-60 procent, maar door een hoge relapse rate kon dit percentage niet worden behouden.^{13,14}

Bijwerkingen van interferon alfa zijn met name griepachtige verschijnselen als koorts, koude rillingen, hoofdpijn en spierpijn, misselijkheid, braken, duizeligheid, depressie, ernstige labiliteit, angstgevoelens, cardiomyopathie, aritmieën, retinale bloedingen, verergering van preëxistente huidaandoeningen en hypo-/hyperthyroïdie.

Absolute contra-indicaties voor het gebruik van interferon alfa zijn psychose, ernstige depressie, neutro- en/of trombopenie, symptomatisch cardiaal lijden, gedecompenseerde levercirrose en oncontroleerbare epilepsie.

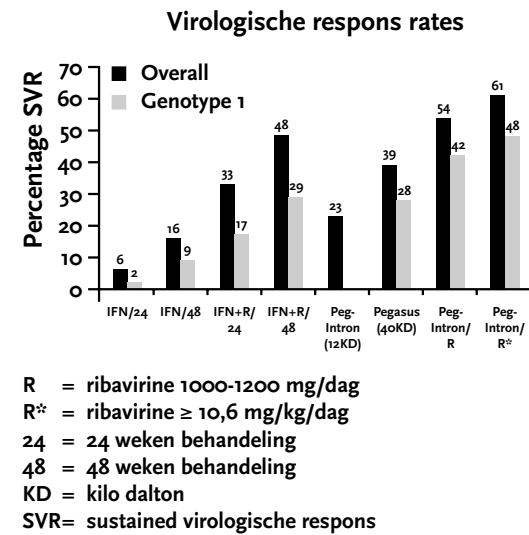
Door toevoegen van de guanosine-analoog ribavirine neemt de relapse rate af en wordt een sustained respons variërend van 31 tot 47 procent gevonden.¹⁵⁻¹⁸

Tijdens de EASL-consensusmeeting in Parijs in februari 1999 is als standaardtherapie voor chronische hepatitis C de combinatietherapie van interferon alfa en ribavirine gekozen.⁷ Uit meta-analyses van grote gerandomiseerde trials bleek dat er geen enkele subgroep van hepatitis-C-patiënten meer kon worden aangewezen die nog voordeel heeft van monotherapie met interferon alfa.¹⁹⁻²¹ Als monotherapie is interferon alfa alleen nog gereserveerd voor patiënten met contra-indicaties voor ribavirine of voor hen die de ribavirinetherapie niet kunnen verdragen. Dit is bijvoorbeeld het geval bij nierinsufficiëntie (ribavirine wordt renaal geklaard), patiënten met ernstige anemie en hemolyse (ribavirine veroorzaakt hemolytische anemie) en bij patiënten met symptomatische hartklachten (verergering van de klachten door anemie).

Het wel of niet succesvol zijn van de antivirale behandeling is afhankelijk van zowel gastheereigenschappen zoals 1) leeftijd (jonger dan 40 jaar is gunstiger dan ouder dan 40 jaar), 2) geslacht (vrouwelijk geslacht is gunstiger dan mannelijk geslacht) en 3) de histologie van het leverbiopt (geen cirrose en geen of alleen portale fibrose is gunstiger) als van virusgerelateerde eigenschappen zoals 4) HCV-genotype en 5) het aantal virusdeeltjes in het bloed (virale load onder 2×10^6 kopieën/ml is gunstiger dan boven 2×10^6) voorafgaande aan de therapie.^{7,22,23} Voor zowel interferon-alfa-monotherapie als voor combinatietherapie is aangetoond dat HCV genotype 1 gepaard gaat met lagere sustained virologische respons rates dan genotypes 2 en 3.^{7,19-21}

De duur van de standaardtherapie is afhankelijk van het genotype en het aantal virusdeeltjes voor aanvang van de therapie: bij patiënten met genotype 2 en 3 kan worden volstaan met een behandeling van een half jaar, bij patiënten met genotype 1 en een lage virale load bedraagt de behandelingsduur eveneens zes maanden, maar patiënten met genotype 1 en hoge virale load dienen een jaar te worden behandeld.⁷ Het blijft een uitdaging om voornoemde resultaten van de combinatietherapie te verbeteren. Om die reden vindt onderzoek plaats waarin hogere, dagelijkse en langduriger dosering van interferon alfa met en/of zonder ribavirine wordt toegepast. Tot op heden lijkt met name het langduriger gebruiken van interferon alfa (48 vs 24 weken) voordeel op te leveren. Dit effect kon zowel in de groep met interferon-alfa-monotherapie als in de groep met combinatietherapie worden aangetoond (figuur 3).¹⁹⁻²¹

Figuur 3. Sustained virologische responspercentages van naïeve (niet eerder behandelde) chronische hepatitis-C-patiënten. Onderverdeling naar genotype. Patiënten met genotype 1 behalen lagere slagingspercentages dan de overall-groep. PEG-interferon behaalt hogere SVR dan standaard interferon alfa. Bronnen: referenties 19-21 en 36-38.



Virale dynamiek van het hepatitis-C-virus

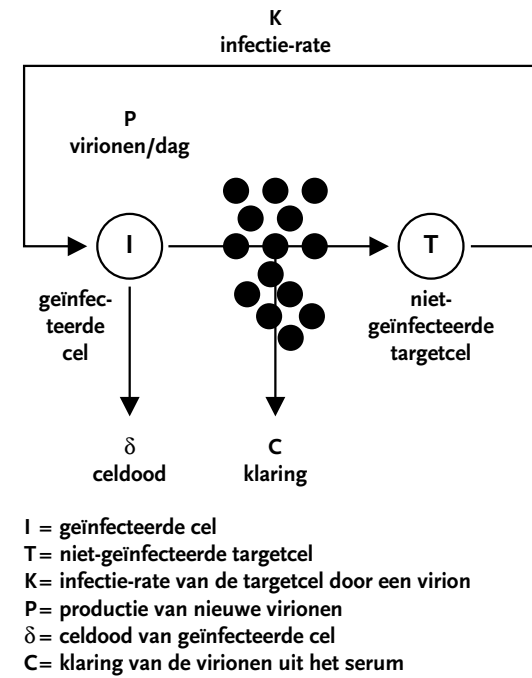
Om een beter inzicht te krijgen in het daadwerkelijke gedrag van het virus en om daardoor eventueel de respons op antivirale therapie te kunnen verbeteren, zijn de kinetiek en dynamiek van het hepatitis-C-virus bestudeerd. Een vergelijkbaar proces heeft zich in de kennisontwikkeling van het humaan immunodeficiëntievirus (HIV) voorgedaan, wat heeft geleid tot therapeutisch succes in de vorm van de 'Highly Active Anti-Retroviral Treatment' (HAART-therapie). Door het ontbreken van een efficiënte en reproduceerbare celcultuur of proefdiermodel waarin de structurele en functionele eigenschappen en de halfwaardetijd van het HCV zouden kunnen worden onderzocht, werd het onderzoek naar kinetiek en dynamiek van HCV direct bij chronische hepatitis-C-patiënten verricht, voorafgaande aan en tijdens de behandeling met interferon-alfa-monotherapie, PEG-interferon-monotherapie en combinatietherapie van standaard interferon alfa en ribavirine.

Net zoals bij het HIV-1 waarin een snelle exponentiële afname van de plasmaconcentratie van het virus wordt gezien na starten van ritonavir, kan er na de eerste dosis interferon alfa een snelle exponentiële afname van het HCV-RNA in het serum worden waargenomen.²⁴⁻³⁰

In deze snelle fase gaat de afname van HCV tienmaal sneller dan de afname van het HIV-1.

De snelle fase wordt gevolgd door een langzame en langdurige exponentiële fase. Dit geheel wordt een bifasisch patroon genoemd.²⁷⁻³⁰ Aan de hand van mathematische modellen verkregen uit de bestudering van het HIV-1-virus in combinatie met de bifasische klaring van het HCV, kan het werkingsmechanisme van interferon alfa worden bestudeerd (figuur 4).²⁹ Er wordt een dosisgerelateerde afname van het aantal virusdeeltjes gezien in de eerste 'snelle' fase na toediening van interferon alfa.^{27,29} Deze dosisgerelateerde afname kan alleen maar optreden als door middel van interferon alfa de productie of het vrijkomen van HCV-virusdeeltjes wordt tegengegaan.^{27,29} Het bifasische patroon van de klaring van het HCV kan worden verklaard door de aanname dat de blokkade van de virusreproductie niet volledig is. De initiële

Figuur 4. Schematisch overzicht van de HCV-kinetiek. Bron: referentie 29.



snelle fase is dan een gevolg van een combinatie met aan de ene kant de virale klaring (c in figuur 4) en aan de andere kant het effect van interferon alfa (blokkade van virusreproductie). De tweede, 'langzame', fase is een afspiegeling van een andere combinatie, namelijk aan de ene kant het afsterven van de geïnficeerde cellen (δ in figuur 4) en aan de andere kant het virusblokkerende effect van interferon alfa.²⁸

Naar aanleiding van deze resultaten, waarbij uit wordt gegaan van een hoge initiële dosering (inductietherapie) om effectieve blokkade van virusproductie, een snelle virusklaring en mogelijk een hogere sustained virologische respons te verkrijgen, zijn er inductieschema's getest, zowel van interferon-alfa-monotherapie als van combinatietherapie met ribavirine. Diverse auteurs concluderen dat bij patiënten met interferon alfa inductietherapie in combinatie met ribavirine een snellere klaring van het virus plaatsvindt (meer patiënten uit de inductiegroep zijn HCV-RNA-negatief op T=8 weken).³¹⁻³³

Carithers, die na een inductieperiode van 8 weken en vervolgens 16 weken dagelijks 3 MIU IFN de dosering IFN heeft verlaagd naar 3 MIU driemaal per week, vindt geen verschil in sustained virologische respons (12 weken follow-up) tussen beide groepen.³¹ In de onderzoeken van Van Vlierberghe en Bjoro werd na de inductiefase van respectievelijk acht en vier weken de dosis IFN verlaagd naar 3 MIU driemaal per week. Van Vlierberghe concludeert een niet-significante vermindering van de relapse rate in de inductiegroep wanneer end-of-treatment response wordt vergeleken met sustained response van zes maanden follow-up.³²

Bjoro vindt mogelijk een trend ten faveure van de inductiebehandeling, maar dan alleen bij patiënten met genotypen 2 en 3.³³ Het moet worden opgemerkt dat deze studies zijn verricht met een lage onderhoudsdosering IFN driemaal per week. Het staat nog ter discussie of wellicht door een hogere onderhoudsdosering een consolidering van de winst die in de inductiefase was verkregen, kan worden behouden. Onderzoek daarnaar is nog gaande. Pawlotsky concludeert dat ook bij een dagelijkse dosering

van interferon alfa een bifasisch patroon van de virusklaring optreedt met een snelle fase op dag 1 en een langzame fase tussen dag 2 en 14.³⁴ Toevoegen van ribavirine aan deze dagelijkse dosering van interferon alfa heeft zowel in de snelle als in de langzame fase geen grotere daling van het HCV-RNA tot gevolg, en ribavirine lijkt daarmee geen additief effect te hebben op de vroege virale kinetiek bij patiënten die dagelijks interferon alfa gebruiken.³⁴

Dit komt overeen met de bevindingen van Zeuzem die bij vergelijking van interferon-alfa-monotherapie (driemaal per week gedoseerd) en interferon alfa/ribavirine combinatietherapie, een vergelijkbare snelheid van de productie en het vrijkomen van vrije virusdeeltjes vond, evenals een vergelijkbare snelheid van verwijdering van deze vrije virusdeeltjes uit het bloed.³⁰ Een synergistisch antiviraal effect van interferon alfa en ribavirine lijkt daarmee erg onwaarschijnlijk.

Door toevoegen van een Polyethyleenglycol (PEG)-molecuul aan interferon ontstaat een 'nieuwe' vorm van interferon, het zogenoemde PEG-interferon. Deze nieuwe vorm heeft een verminderde renale klaring en daardoor een langere halfwaardetijd.³⁵ Zowel PEG-interferon-monotherapie als PEG-interferon in combinatie met ribavirine geven in vergelijking met interferon-alfa-monotherapie betere resultaten (figuur 3).^{19-21,36-39} Deze verbeterde respons is te danken aan de verhoogde snelle virologische respons in het eerste gedeelte van de behandeling en een sterk verminderde doorbraak van het virus gedurende de behandeling.⁴⁰ Door de verlengde werking van PEG-interferon is het virus niet in staat opnieuw te repliceren, wat wel gebeurt gedurende conventionele interferontherapie in een dosis van driemaal per week. Bij gebruik van PEG-interferon geldt dat de snelle virologische respons in combinatie met de virale load voorafgaande aan behandeling de beste voorspellende waarde heeft voor het optreden van een sustained virologische respons.⁴⁰ Met de komst van ribavirine, PEG-interferon en de verworven inzichten in de complexe virale dynamiek van het hepatitis-C-virus lijkt de behandeling van chronische hepatitis C in een nieuw tijdperk te zijn beland. Een tijdperk waarin de standaardtherapie voor chronische hepatitis C hogere slagingspercentages bereikt en de mogelijke effectiviteit van nieuwe (combinatie)therapieën nauwkeurig kan worden gevolgd.

Summary

Treatment of chronic hepatitis C is still a problem. Monotherapy with interferon- α leads to a sustained virological response in only 20 percent of patients. Interferon- α combined with ribavirine gives higher response rates (31-47 percent). The effect of antiviral treatment is dependent of patient and virus characteristics, such as gender, age, liver histology, virus genotype and viral load in serum. Research into the dynamics of the hepatitis C virus and the monitoring of the viral load after onset of treatment have led to new insights in the therapy of chronic hepatitis C, such as induction therapy and the use of PEG-interferon.

H. van Soest, Afdeling Gastroenterologie en Hepatologie Foz.618,

G. Boland, Afdeling Medische Microbiologie,

J. van Hattum, Afdeling Gastroenterologie en Hepatologie Foz.618,

allen Universitair Medisch Centrum Utrecht, Postbus 85500, 3508 GA Utrecht

Literatuur

- Van Hattum J. Hepatitis C, een ontwakende reus. Ned Tijdschr Geneesk 1996;140:119-24.
- Simmonds P, Smith DB, Mc Omish F, et al. Identification of genotypes of hepatitis C virus by sequence comparisons in the core. E1 en NS-5 regions. J Gen Virol 1994;75:1053-61.
- Pawlotsky JM. Diagnostic tests for hepatitis C. J Hepatol 1999;31(suppl 1):71-9.
- World Health Organization; Weekly epidemiological record 1997;72:65-72.
- Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. Lancet 1997;49:825-32.
- Di Bisceglie AM, Goodman ZP, Ishak KG, Hoofnagle JH, Melpolder JJ, Alter HJ. Long-term clinical and histopathological follow-up of chronic post-transfusion hepatitis. Hepatology 1991;14:969-74.
- EASL International Consensus Conference on Hepatitis C, Paris, February 1999. Consensus Statement. J Hepatol 1999;30:956-61.
- Ferri C, Greco F, Lomgorbardo G, et al. Association between hepatitis C virus and mixed cryoglobulinaemia. Clin Exp Rheumatol 1991;9:621-4.
- Wong VS, Egner W, Elsei T, Brown D, Alexander GJM. Incidence, character and clinical relevance of mixed cryoglobulinaemia in patients with chronic hepatitis C virus infection. Clin Exp Immunol 1996;104:25-31.
- Agnello V. The etiology and pathophysiology of mixed cryoglobulinaemia secondary to hepatitis C virus infection. Springer Semin Immunopathol 1997;19:111-29.
- Johnson RJ, Gretsch DR, Yamabe H, et al. Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. N Engl J Med 1993;328:465-70.
- Poynard T, Leroy V, Cohard M, et al. Meta-analysis of interferon randomized trials in the treatment of viral hepatitis C: effects of dose and duration. Hepatology 1996;24:778-89.
- Davis GL, Balart L, Schiff ER, et al. Treatment of chronic hepatitis C with recombinant interferon alfa: a multicenter randomised, controlled study. N Eng J Med 1998;339:1501-6.
- Di Bisceglie AM, Martin P, Kassianides C, et al. Recombinant interferon alpha therapy for chronic hepatitis C. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. N Eng J Med 1989;321:1506-10.
- Reichard O, Schvarcz R, Weiland O. Therapy of hepatitis C: alpha interferon and ribavirin. Hepatology 1997;26(suppl 1):1085-1115.
- Reichard O, Norkrans G, Frydén A, Braconier JH, Sönnernborg, Weiland O. Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of interferon alpha-2b with and without ribavirin for chronic hepatitis C. Lancet 1998;351:83-7.
- Chemello L, Cavaletto L, Bernardello E, Guido M, Pontisso P, Alberti A. The effect of interferon alfa and ribavirin combination therapy in naive patients with chronic hepatitis C. J Hepatol 1995;23:8-12.
- Lai M-Y, Kao J-H, Yang P-M, et al. Long term efficacy of ribavirin plus interferon alpha in the treatment of chronic hepatitis C. Gastroenterology 1996;111:1307-12.
- Poynard T, McHutchinson J, Goodman Z, Ling M-H, Albrecht J. Is an "à la carte" combination interferon alfa-2b plus ribavirin regimen possible for the first line treatment in patients with chronic hepatitis C? Hepatology 2000;31:211-8.
- Poynard T, Marcellin P, Lee S, et al. Randomised trial of interferon alpha-2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha-2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. Lancet 1998;352:1426-32.
- Mc Hutchinson J, Gordon S, Schiff E, et al. Interferon alpha-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. N Eng J Med 1998;339:1485-92.
- Lau JYN, Davis GL, Kniffen J, et al. Significance of serum hepatitis C virus RNA-levels in chronic hepatitis C. Lancet 1993;341:1501-4.
- Booth JCL, Foster GR, Kumar U, et al. Chronic hepatitis C virus infections: predictive value of genotype and level of viraemia on disease progression and response to interferon. Gut 1995;36:427-32.
- Zeuzem S, Lee J-H, Franke A, et al. Quantification of the initial decline of serum hepatitis C virus RNA and response to interferon alpha. Hepatology 1998;27:1149-56.
- Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. Nature 1995;373:123-6.
- Perelson AS, Essunger P, Cao Y, et al. Decay characteristics of HIV-1-infected compartments during combination therapy. Nature 1997;387:188-91.
- Lam NP, Neumann AU, Gretsch DR, Wiley TE, Perelson AS, Layden TJ. Dose-dependent acute clearance of hepatitis C genotype 1 virus with Interferon alpha. Hepatology 1997;26:226-32.
- Neumann AU, Lam NP, Dahari H, et al. Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-therapy. Science 1998;282:103-8.
- Perelson AS. Viral kinetics and mathematical models. Am J Med 1999;107(6b):49S-52S.
- Zeuzem S, Schmidt JM, Lee J-H, von Wagner M, Teuber G, Roth WK. Hepatitis C virus dynamics in vivo; effect of ribavirin and interferon alfa on viral turnover. Hepatology 1998;28:245-52.
- Carithers RL, Zeuzem S, Manns MP, et al. Multicenter, randomized, controlled trial comparing high dose daily induction interferon plus ribavirin versus standard interferon alfa-2b plus ribavirin. Hepatology 2000;32(4):317A-631.
- Van Vlierberghe HR, Leroux-Roels G, Bourgeois N, et al. Daily induction combination treatment with alfa2b interferon or standard combination treatment in naive chronic hepatitis C patients. A controlled multicenter randomized trial. Hepatology 2000;32(4):364A.
- Bjoro K, Bell H, Hellum K, Myrvang B, Skaug K. Randomized trial of IFN-A induction and ribavirin vs standard IFN-A and ribavirin for chronic HCV in previously untreated patients. Hepatology 2000;32(4):317A-632.
- Pawlotsky JM, Neumann AU, Conrad A, et al. Hepatitis C virus (HCV) dynamics during induction therapy with interferon (IFN) alpha and/or ribavirin. Hepatology 2000;32(4):223A.
- Glue P, Fang JWS, Sabo R, Rouzier-Panis, et al. PEG-interferon-a2b: pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and preliminary efficacy data. Hepatology 1999a;30:189a.
- Trepo C, Lindsay K, Niederau C, et al. Pegylated interferon alfa-2b monotherapy is superior to interferon alfa-2b for the treatment of chronic hepatitis C. J Hepatol 2000;32(suppl 2):29.
- Manns MP, McHutchinson J, Gordon S, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared to interferon alfa-2b plus ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C. AASLD meeting, Dallas, October 2000.
- Zeuzem S, Feinman SV, Raseneck J, et al. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C. N Eng J Med 2000;343(23):1666-72.
- Consensus statements on the prevention and management of hepatitis B and hepatitis C in the Asia-Pacific region. J Gastroenterol Hepatol 2000;15:825-41.
- Neumann AU, Zeuzem S, Brunda MJ, Hoffman JH. Rapid viral response to treatment with pegylated (40kDa) interferon alfa-2a (pegasys™) is strongly predictive of a sustained virologic response in patients with chronic hepatitis C (CHC). Hepatology 2000;32(4):318A.
- Cuthbert JA. Hepatitis C: progress and problems. Clin Microbiol Rev 1994;7:505-32.
- Simmonds P. Viral heterogeneity of the hepatitis C virus. J Hepatology 1999;31(suppl 1):54-60.

Virussen & de paradox van preventie

Rede

uitgesproken bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar in de Virologie aan de Faculteit der Medische Wetenschappen van de Katholieke Universiteit Nijmegen op vrijdag 2 februari 2001 door dr. J.M.D. Galama.

"The most beautiful thing we can experience is the mysterious. It is the source of all true art and science."

ALBERT EINSTEIN

Mijnheer de Rector Magnificus, Zeer gewaardeerde toehoorders, In het jaar 430 voor Chr. werd Athene getroffen door een plaag. Het was tijdens het hoogtepunt van haar macht binnen het klassieke Europa. De eerste doden vielen in Piraeus, de haven van Athene, maar al gauw verspreidde de ziekte zich onder de gehele bevolking. De ziekte was fataal voor ruim één derde van de inwoners en verdween weer even snel en mysterieus als zij kwam. De verwekker is nooit achterhaald. Door ziekte verzwakt, verloor Athene de strijd om de hegemonie en was niet meer in staat om de machtspositie te herstellen. Een cultuur verdween. Zinsser was de eerste die schreef over de invloed van infectieziekten op de geschiedenis.¹ Aan hem danken we ook de uitspraak dat Napoleon was verslagen door een luis. Deze bracht vlektyfus onder de Franse legers en bezorgde hen zo de nederlaag. Plagen maakten dus historie, maar de civilisatie heeft ook plagen voortgebracht. Over het verband tussen virussen en geschiedenis zal ik u uitvoerig onderhouden, maar eerst zal ik uitleggen wat virussen zijn en waarin ze verschillen van andere micro-organismen zoals bacteriën en schimmels. Vervolgens zal ik stilstaan bij de betekenis van virussen voor de evolutie van het immuunsysteem. Dit systeem heeft tot taak om ons tegen infecties te beschermen. Het is na de hersenen het meest complexe systeem dat de evolutie heeft voortgebracht. Vanouds waren het de virussen die dit systeem op de proef hebben gesteld. Daarbij vervulden ze door natuurlijke selectie een positieve rol. Echter, virussen kunnen ook een negatief effect hebben waarbij het immuunsysteem ontspoot en een auto-immuunziekte ontstaat. Dit resulteert in een verhaal vol paradoxen maar mijn boodschap zal uiteindelijk zijn dat virussen, naast alle kwaad dat ze stichten, mogelijk ook ergens goed voor zijn. Twee virussen wil ik in deze rede centraal stellen: het mazelenvirus en het enterovirus. Naar beide virussen heb ik als viroloog onderzoek gedaan en beide spelen een rol in de paradox waarover ik u ga onderhouden. Maar nu eerst een antwoord op de vraag: wat is eigenlijk een virus?

Wat is een virus?

Peter Medawar, immunoloog en Nobelprijswinnaar (1960) omschreef een virus als "a piece of nucleic acid surrounded by bad news".² Vrij vertaald komt het er op neer dat een virus dood is en slechts bestaat uit een erfelijke boodschap, een slecht nieuws bericht in een geadresseerde envelop. De cel die deze brief ontvangt en zo dom is om hem te openen, wordt gedwongen om de brief tot het bittere einde te lezen. De boodschap is eenvoudig. De cel krijgt de opdracht om nieuw virus te maken, een slavenarbeid waaraan ze doorgaans ten gronde gaat. Gaat de cel te snel dood, dan is er

onvoldoende virus geproduceerd en is de infectie geen succes. Groeit het virus te langzaam, dan bestaat de kans dat de geïnfecteerde cel ontdekt wordt door het immuunsysteem en al is opgeruimd voordat er nieuwe virussen zijn. Het is vaak een race tegen de klok. Sommige virussen, waaronder het herpesvirus, kunnen de afweer op meesterlijke wijze om de tuin leiden en een chronische infectie veroorzaken. Andere virussen, zoals mazelenvirus en HIV, verlammen de afweer waardoor ze tijd winnen. Ze doen dit door de cellen van het immuunsysteem te infecteren en uit te schakelen. Tenslotte bestaan er virussen die een cel infecteren maar geen schade toebrengen. Bij deze infecties zal niet het virus zelf, maar de afweer ziekte kunnen veroorzaken. Dat komt omdat het afweersysteem is toegerust met *killercellen* die de geïnfecteerde cellen herkennen en opruimen. Simpel gesteld, ontstaat een virusziekte doordat plotseling veel cellen afsterven, hetzij als slachtoffer van het virus, hetzij als slachtoffer van de *killercellen* die geen besmetting dulden. In de evolutie zijn deze *killercellen* ontstaan als antwoord op virusinfecties omdat die zich geheel binnen de cel afspelen. Daartoe heeft het immuunsysteem het vermogen ontwikkeld om onderscheid te maken tussen gezonde cellen die wel worden aangeduid als lichaamseigen (*self*), en geïnfecteerde cellen die als lichaamsvreemd (*non-self*) worden herkend. Bij auto-immuunziekten is dit principe verstoord en richt de afweer zich tegen de eigen weefsels en organen, dus tegen het *self*. Een virus heeft dus altijd een cel nodig waarin het wordt vermeerderd. Echter, niet iedere cel kan de brief ontvangen. Daarvoor moeten op het oppervlak van de cel specifieke moleculen aanwezig zijn waaraan het virus kan hechten. Ook zijn er cellen die de brief wel ontvangen maar vervolgens de opdracht negeren. Dit maakt dat slechts bepaalde cellen en weefsels schade ondervinden. Om al deze redenen is de relatie van een virus met zijn gastheer zeer specifiek, zelfs zo specifiek dat een virus niet eenvoudig van de ene diersoort kan overstappen op een andere. Dat gebeurt maar zelden en lukt eigenlijk alleen wanneer de soorten verwant zijn, bijvoorbeeld bij mensen en mensapen. De meeste virussen zijn kwetsbaar en gaan buiten de gastheer snel dood, zodat ze vlug een nieuw slachtoffer moeten vinden. In elk van deze opzichten verschilt een virus van bacteriën en schimmels, die zich zelfstandig kunnen vermeerderen en waarvan de meeste vrij in de natuur voorkomen. Door de unieke relatie die virussen met hun gastheer onderhouden is ook hun evolutie gekoppeld. Men spreekt van co-evolutie. Zo speelt het gedrag van de gastheer een belangrijke rol bij de verspreiding van het virus. Derhalve is onze geschiedenis met haar sociale en culturele ontwikkeling belangrijk geweest voor het ontstaan van virusziekten.

Virus en cultuur: een kwestie van kansen

Kenmerkend voor de relatief korte geschiedenis van de mensheid zijn de geleidelijke civilisatie en de verovering van continenten. Deze ontwikkeling ging gepaard met een frequente wisseling van leefomstandigheden waardoor kansen ontstonden voor nieuwe infectieziekten.³ Zo leefden de prehistorische jagers als nomaden in kleine geïsoleerde gemeenschappen. Binnen een kleine gemeenschap kan een virus zich alleen handhaven als het een chronische infectie veroorzaakt die van generatie op generatie wordt overgedragen. Dat gebeurt bij intiem contact zoals speelt tussen moeder en kind. Voorbeelden zijn het cytomegalovirus dat via de moedermelk wordt overgedragen en het humaan papillomavirus dat wratten veroorzaakt. Virus en gastheer zijn goed aan elkaar aangepast zodat de infectie weinig ziekte veroorzaakt en geen belemmering vormt voor de strijd om het bestaan. Deze virussen behoren tot de oudste in onze geschiedenis. Enterovirussen, waartoe het poliovirus behoort, veroorzaken een acute, kortdurende, maagdarminfectie waarbij het nieuw gevormde virus massaal in de ontlasting terecht komt. Na enkele weken eindigt de virusuitscheiding en moet het virus een nieuw slachtoffer vinden, anders stopt de infectieketen. Enterovirussen zijn echter relatief stabiel en kunnen enige weken in water overleven. Komen ze in oppervlaktewater terecht, dan kunnen ze kilometers verspreid worden voordat ze afsterven.

Naarmate de wereldbevolking groeide en nederzettingen ontstonden rond de waterwegen, kregen deze virussen een kans om zich te verspreiden. Acute luchtweginfecties zoals de mazelen werden pas succesvol nadat de bevolkingsdichtheid zo was toegenomen dat een besmettingsketen kon ontstaan waarbij het virus van mens op mens wordt overgebracht. De keten kan alleen stand houden zolang er voldoende mensen ontvankelijk zijn voor de infectie. Deze infecties danken hun succes aan de opkomst van de steden en de handel die zorgde voor uitwisseling tussen de steden onderling. Infecties eisten een zo hoge tol dat een constante toestroom van volk noodzakelijk was om de stadsbevolking op peil te houden.³ Deze situatie hield ook in Nederland stand tot in de 20^e eeuw.⁴ Met de intrede van de industriële revolutie kwamen welvaart en wetenschap tot bloei. De microscoop werd krachtiger, de besmettingsleer aanvaard en er ontstond enig besef van hygiëne. Men trof maatregelen waardoor de sterfte aan infectieziekten, die eind 19^e eeuw nog ruim 40 procent van alle doodsoorzaken betrof, voor het eerst scherp ging dalen. Er werden rioleringen aangelegd en het drinkwater kwam voortaan uit een kraan. Hierdoor verdwenen ziekten als cholera en tyfus, maar onverwacht dook een nieuwe ziekte op: poliomyelitis of kinderverlamming. Daarbij viel op dat nu niet de arme drommel het slachtoffer was maar juist de hogere klasse, met president Franklin Roosevelt als prominent voorbeeld. Zodoende trok poliomyelitis veel publiciteit en werd ze een gevreesde ziekte onder de rijken.

Poliomyelitis is evenals cholera een darminfectie, kortom een infectie uit het riool. Hoe kon nu kinderverlamming ontstaan op het moment dat de hygiëne sterk verbeterde? Het antwoord kwam nadat wetenschappers het virus hadden geïsoleerd en konden kweken. Uit hun onderzoek bleek dat onder de zeer onhygiënische toestanden die vóór het einde van de 19^e eeuw heersten, zuigelingen kort na de geboorte al met poliovirus besmet werden. Zo jong, bezit een baby nog antistoffen van de moeder welke hem tijdens de eerste

zes levensmaanden beschermen. Wordt een zuigeling in deze periode besmet, dan veroorzaakt polio alleen een darminfectie en kan het virus zich niet via de bloedbaan verspreiden en verlamming veroorzaken.

Tijdens de darminfectie ontstaat immuniteit waardoor een tweede infectie onschadelijk is. Door de toegenomen hygiëne was de kans op besmetting weliswaar afgenomen, maar het poliovirus niet verdwenen. Nu de kans kleiner was werden kinderen ook op latere leeftijd geïnfecteerd, nadat de antistoffen van de moeder waren verdwenen. Zo kon het virus alsnog de zenuwbanen bereiken. De vaccinatie tegen polio heeft uiteindelijk de oplossing geboden. Achteraf beschouwd, was poliomyelitis een oude ziekte die al bestond in de tijd van de farao's. Verlammingen kwamen ook toen voor, maar sporadisch en werden daarom niet herkend als het gevolg van een infectieziekte. De verbeterde hygiëne had dus een gunstig effect op het vóórkomen van darminfecties hoewel dat paradoxaal uitpakte voor polio. Deze vorm van hygiëne had echter geen effect op infecties die door de lucht worden verspreid, zoals de mazelen. Hun incidentie nam zelfs toe nu de steden dankzij de sanitaire verbetering begonnen te groeien. Ze raakten overbevolkt en je werd al van kindsbeen af geconfronteerd met infecties. De mazelen werden zo een kinderziekte waarbij de reputatie van dodelijke ziekte verdween. Op dit onderwerp zal ik nog uitgebreid terugkomen.

Dames en heren, deze korte vlucht door de tijd leert ons dat virusinfecties nauw zijn verbonden met onze beschaving en urbanisatie. Het zijn ware opportunisten die iedere verandering aangrijpen en ons daarbij voor verrassingen plaatsten zoals het paradoxale ontstaan van poliomyelitis als welvaartsziekte. Verliepen de ziekten dodelijk dan ontstond natuurlijke selectie die resulteerde in aanpassing van de populatie. Bij dit laatste wil ik uitvoerig stilstaan, omdat adaptatie aan ziekten uit het verleden ons nog steeds parten speelt bij huidige ziekten.

Het immuunsysteem en adaptatie

Verloopt een infectie dodelijk waardoor de gastheer met uitsterven wordt bedreigd, dan komt ook het virus in gevaar. Dan dreigt immers de infectieketen te breken. In die situatie is adaptatie de enige uitweg. Dat geldt zowel voor de gastheer als voor het virus. Er bestaat een indrukwekkend voorbeeld van adaptatie onder extreme omstandigheden dat ik u niet wil onthouden. Het betreft de introductie van myxomatose onder konijnen in Australië. Het Europese konijn was in 1859 uitgezet. Dit bleek geen slimme zet want het dier trof op dit continent geen natuurlijke ziekten of vijanden. Binnen 20 jaar was een rampzalige konijnenplaag ontstaan. Men overwoog om deze met een ziekte te bestrijden. Louis Pasteur had zich er in 1888 al mee bemoeid, maar men vond geen geschikte ziekteverwekker die alleen de konijnen zou treffen. Het myxomatosevirus dat in 1919 bij toeval in Brazilië was ontdekt, bleek echter geschikt. Het virus veroorzaakte een dodelijke ziekte onder Europese konijnen en werd door muskieten overgebracht, wat gunstig leek voor de verspreiding. Het experiment werd pas in 1950 uitgevoerd. De infectie bleek zich met ongekende snelheid te verspreiden. Bij aanvang van de epidemie stierf ruim 99 procent van de konijnen zodat het dier in grote gebieden was uitgeroeid. Twee jaar later bleek echter dat het virus zich had aangepast en minder dodelijk (virulent) was geworden. Nu stierf niet meer dan 80 procent van de oorspronkelijke konijnenpopulatie en

nog maar 50 procent van de konijnen die de infectie al gedurende enkele generaties hadden doorstaan. Door natuurlijke selectie was hun weerstand toegenomen. Na zeven generaties ontstond een zeker evenwicht. Het virus had zich niet verder aangepast, maar van de wilde konijnen stierf nog maar 20 procent aan myxomatose. Na 15 jaar was de konijnenpopulatie stabiel gereduceerd tot ongeveer een vijfde van het oorspronkelijke aantal. De direct door myxomatose veroorzaakte sterfte was slechts gering. Alleen waren de dieren tijdens de ziekte een gemakkelijke prooi geworden voor roofdieren.⁵ Hoewel een reductie met 80 procent een zware prijs is, mag men toch spreken van een succesvolle aanpassing. Het alternatief was uitsterven. Vanwege het succes is myxomatose later ook in Europa geïntroduceerd. Dit experiment illustreert hoe nieuwe infectieziekten kunnen ontstaan en hoe groot het adaptatievermogen is van mens en dier. Het extreme bestond uit de combinatie van de nieuwe ziekte en de samenstelling van de populatie die afstamde van enkele Europese voorouders en zonder voorgaande ziekten weinig diversiteit had ontwikkeld. Ernstige infectieziekten hebben zodoende een sterke invloed op de evolutie van de populatie wat bovenal merkbaar zal zijn in het immuunsysteem. Of dit extreme selectieproces voor de konijnen ook nadelen had is niet goed bekend. Kenmerkend voor selectiedruk zijn de volgende factoren: (1) het gaat om een ernstige ziekte die een fors aantal doden veroorzaakt; (2) de ziekte is zo besmettelijk dat maar weinigen ontkomen en alleen de sterken overleven; (3) de infectie kan zich handhaven waardoor elke generatie opnieuw wordt besmet en het selectieproces vele generaties omvat. Individuen met zwakke genen verdwijnen totaal uit de populatie en de gunstige eigenschappen worden definitief in het genoom verankerd. Al deze kenmerken vinden we terug bij de mazelen, de ziekte die ik graag met u zal bespreken omdat ik daaraan mijn fascinatie voor de virologie heb te danken.

De mazelen

De mazelen hebben eveneens tot een sterke natuurlijke selectie geleid met een drastische aanpassing van ons afweersysteem. Om dit te staven zal ik u eerst iets vertellen over de ernst van de ziekte.

De ziekte werd rond de 1^e eeuw na Christus via de zijderoute naar Europa gebracht. Het was toen een zeer ernstige ziekte. Daarom denkt men dat het destijds voor de mens een nieuwe ziekte was. De ernst roept misschien verbazing op. Uit het recente verleden kent U de ziekte immers als een relatief milde kinderziekte. Dit beeld is onjuist en maakt dat de invloed van mazelen wel eens wordt onderschat. Of de ziekte mild is hangt af van gunstige omstandigheden die niet overal aanwezig zijn en al helemaal niet in het verleden. Niet voor niets werd de mazelen in één adem genoemd met de pokken. Wanneer je was gepokt en gemazeld, en dat had doorstaan, dan kon je de wereld aan en was alleen de duvel nog in staat je te halen. Onder een bevolking die nooit eerder met dit virus in contact was geweest richtte de ziekte een ware slachting aan met sterftecijfers tot 50 procent. In de allervroegste tijden moet de sterfte zelfs hoger geweest zijn, vergelijkbaar met die van het gevreesde Ebolavirus. Omdat mazelen een van de meest besmettelijke ziekten is die we kennen, veel infectieuzer dan de pokken of de pest, werd niemand ontzien. Dit weten we niet alleen uit oude kronieken, maar ook van recentere epidemieën op de Fiji eilanden (1875)

en op Groenland (1951), waarbij 99 procent van de bevolking ziek werd en 40 procent stierf.⁶ De grote besmettelijkheid tezamen met een hoge sterfte, zorgden er voor dat mazelen een sterke natuurlijke selectie veroorzaakte. Dit heeft ongetwijfeld tot enige aanpassing geleid, maar die is nog verre van volmaakt. Bij volwassenen is het beloop nog steeds niet onschuldig en bij kinderen tussen de 3 en 8 jaar relatief mild. Het is niet geheel duidelijk waarom dit zo is. In ieder geval veranderde het karakter van de mazelen doordat het een kinderziekte werd. Dit laatste kwam hoofdzakelijk doordat de steden begonnen te groeien en de infectiedruk toenam. Bovendien werd de ziekte door de urbanisatie endemisch. Het mazelenvirus kan zich al handhaven in een gemeenschap van niet meer dan 250.000 zielen, ongeveer de bevolking van Nijmegen en omgeving. Zijn de omstandigheden echter ongunstig, zoals dat nog veel het geval is in arme landen met ondervoeding en tal van andere infecties, dan is mazelen als vanouds een killer. Ondanks uitgebreide vaccinatie, die inmiddels ook in ontwikkelingslanden wordt toegepast, behoort mazelen mondiaal nog steeds tot de top 10 van dodelijke infectieziekten, vergelijkbaar met malaria. Wat maakt nu van mazelen een killer? De infectie wordt vaak gecompliceerd door een pneumonie. Deze wordt echter zelden door het virus veroorzaakt, maar meestal door een bacterie. Zo brak vroeger na een mazelenepidemie vaak tuberculose uit. Dit was al geruime tijd bekend toen Von Pirquet in 1908 een bevinding deed die uiteindelijk zou leiden tot een beter begrip van de ziekte. Von Pirquet had ontdekt dat de immunologische weerstand tegen tuberculose die gemeten werd met een tuberculine reactie van de huid, tijdens een mazeleninfectie verdween.⁷ Hiermee werd voor het eerst duidelijk dat mazelen de afweer onderdrukt. Dit was aanleiding voor nader onderzoek naar het effect van mazelenvirus op de afweer.

Mazelenvirus en het immuunsysteem

In 1974 begon ik een promotieonderzoek naar het effect van mazelenvirus op witte bloedcellen (lymfocyten). Dit onderzoek voerde ik uit op het Centraal Laboratorium voor de Bloedtransfusiedienst in Amsterdam, in de wandelgangen het CLB genoemd. Het onderzoek werd samen met Professor Kees Lucas uitgevoerd, die in dezelfde periode op mazelen is gepromoveerd. Onze promotor was Professor J.J. van Loghem, een bijzondere man met visie en Amsterdamse lef. Hij had het CLB lang voor het fenomeen onderzoekschool ontstond, weten uit te bouwen tot een "Center of Excellence". Je was trots om daar te mogen werken. Op het CLB is mijn passie ontstaan voor de combinatie van virussen en de immunologie.

De destijds recente ontdekking dat mazelen een sluipende maar dodelijke infectie van de hersenen, een subacute encefalitis (SSPE), kon veroorzaken was aanleiding voor ons onderzoek. Deze zeldzame encefalitis stond model voor een veel belangrijker ziekte waarvan werd vermoed dat mazelen er eveneens voor verantwoordelijk was, namelijk multiple sclerose, een auto-immuunziekte. Wij hadden ons tot doel gesteld om de cellulaire afweer tegen het mazelenvirus te bestuderen, wat in die tijd actueel was omdat net was ontdekt dat bepaalde lymfocyten, de *killercellen*, in staat zijn om geïnfecteerde cellen in het lichaam specifiek te herkennen en op te ruimen. Voor deze vorm van cellulaire afweer waren de in de thymus (T) gerijpte zogeheten T-lymfocyten verantwoordelijk. Om T-lymfocyten aan te zetten tot celdeling,

wat een maat is voor hun activering, voegden we virus toe. Maar, in plaats van activering zagen we complete remming van de celdeling.⁸ Waren de lymfocyten al geactiveerd en bijvoorbeeld in staat om andere cellen te 'killen', dan had het virus geen effect en werd de functie niet verstoord.⁹ Remming trad evenmin op wanneer eerst mazelenantistoffen waren toegevoegd en zo bleek dat de remming beruiste op een infectie van de lymfocyten. Ook vonden we dat het virus in rustende, dus niet-geactiveerde lymfocyten niet groeide maar wel een sluimerende infectie veroorzaakte. Werden de cellen geactiveerd, dan sloeg het virus alsnog toe en begon te groeien. Daarbij gingen de lymfocyten dood.¹⁰ Jaren later bleek dat HIV hetzelfde doet, alleen langzamer. De overeenkomst met HIV maakt duidelijk waarom mazelen een grote killer is. Een belangrijk verschil met HIV schuilt in de besmettelijkheid die bij mazelen vele malen groter is, en die bepalend is voor de selectiedruk.

Tegen besmetting valt bij mazelen weinig uit te richten. Veilig vrijen helpt niet, alleen vaccinatie helpt. Onze proeven maakten voor het eerst duidelijk hoe mazelen de afweer onderdrukt waardoor andere infecties zoals tuberculose een kans krijgen. Ook werd enigszins begrijpelijk waarom mazelen bij kinderen onder goede hygiënische omstandigheden minder ernstig verloopt. Jonge kinderen dragen nog weinig andere ziektekiemen bij zich.

Het is beangstigend maar tegelijk ook fascinerend om te beseffen dat de eerste mensen die mazelen doormaakten helemaal niet aangepast waren. De infectie moet een zware wissel hebben getrokken op hun bestaan en een sterke selectie hebben veroorzaakt. Welke de gevolgen daarvan zijn geweest voor ons immuunsysteem, is niet met zekerheid aan te geven. Het virus verlamt het specifieke systeem van de T- en B-lymfocyten, waaronder de eerder genoemde *killer-cellen*. De laatste zijn echter uiteindelijk verantwoordelijk voor het herstel.¹¹ Waarschijnlijk moest de mens om te overleven tijdelijk terugvallen op oude afweer principes zoals de aanmaak van interferonen en cytokinen, stoffen die de virusgroei remmen en niet alleen worden gemaakt door de cellen van het immuunsysteem. Ik kan me voorstellen dat deze archaische vorm van afweer een positieve selectie heeft ondergaan, maar weten doen we het niet. Het repertoire aan genen dat voor de adaptatie verantwoordelijk is ligt inmiddels in het genoom verankerd, hoewel hun aanwezigheid door de vaccinatie niet meer opportuun is. Recent is gebleken dat de uitkomst van deze selectie ook nadelen kent. Zodra de mazelen niet meer vóórkomen, lijken immunologische ziekten zoals allergie en hooikoorts toe te nemen, een paradoxaal effect waarop ik aan het slot zal terugkomen.

Enterovirus

Sinds 1990 verrichten we in Nijmegen onderzoek naar enterovirus. Het gaat hierbij niet om één enkel virus maar om 64 zeer verwante virussen waarvan u het poliovirus reeds kent. De andere hebben namen als Cocksackievirus, ECHOvirus of gewoon enterovirus. Met uitzondering van het poliovirus, zijn het geen spectaculaire virussen. Ze veroorzaken een darminfectie zonder veel klachten. Het meest aansprekend zijn de complicaties die soms kunnen ontstaan, zoals verlamming, meningitis, encefalitis en myocarditis. Dit laatste is een infectie van de hartspier. Waarom dan dit onderzoek? Het interessante aan deze virussen is dat ze een rol spelen bij het ontstaan van chronische ziekten waarbij verdenking bestaat op een immunologische oorzaak. Dus

na mazelenvirus dat als een schoolmeester de afweer in het gareel houdt, dan nu enterovirus, dat als het enfant terrible dat het systeem in de war schopt. Naar dat enfant terrible doen wij dus onderzoek.

Enterovirussen behoren tot de kleinste onder de RNA virussen de *picornaviridae*, wat letterlijk betekent: "kleine (pico) RNA-virussen". Het virus bestaat slechts uit een eiwitkapseltje met daarin een RNA-molecule, dat het 'bad news' bevat. Het eiwitkapseltje is stabiel en zorgt dat het RNA wordt beschermd tijdens de weg door de maag zodat het virus ongeschonden de darm bereikt. In darmcellen wordt het enterovirus zeer snel vermenigvuldigd. Binnen 8 tot 16 uur is een cel volledig uitgeput, barst open en levert tienduizenden nieuwe virussen af. Enterovirussen veroorzaken een acute infectie die na één tot twee weken over is. Wat er na de acute fase gebeurt, daarover verschillen de inzichten. Een aantal onderzoekers meent dat de infectie chronisch kan worden. Men noemt dit viruspersistentie.

Enterovirus en chronische ziekten

Voor de relatie met chronische ziekten worden in de literatuur twee verklaringen genoemd: de ene is de zojuist genoemde viruspersistentie en de ander is dat het virus auto-immuniteit kan veroorzaken. De drie belangrijkste ziekten waarmee enterovirus in verband wordt gebracht zijn: *hartfalen*, een ziekte van de hartspier die het gevolg kan zijn van een myocarditis; het *chronisch vermoeidheid syndroom*, daarom wel *Post Viral Fatigue Syndrome* genoemd; *type-1-diabetes mellitus*, een auto-immuunziekte.

Bij hartfalen werd het virus in de hartspier gevonden, bij het Chronisch Vermoeidheid Syndroom in de ontlasting, en bij diabetes in het bloed. Type-1-diabetes is echter een auto-immuunziekte waarbij de afweer zich richt tegen de insuline producerende β -cellen in de eilandjes van Langerhans. Bij hartfalen en chronisch vermoeidheid syndroom wordt wel verondersteld dat autoimmunititeit een rol speelt, maar een hard bewijs ontbreekt. Voor deze ziekten gold dat een persistente enterovirus infectie was gevonden en dat er mogelijk of met zekerheid sprake was van een auto-immuunziekte.

Geen persistentie

Dat enterovirus kon persistentie was op het moment dat ik naar Nijmegen kwam een geheel nieuw concept, dus een uitdaging voor nader onderzoek! Voor dat onderzoek bleken de omstandigheden in Nijmegen bijzonder gunstig. Een klein jaar voor mijn komst was Professor Jos van der Meer benoemd tot hoofd van de Afdeling Algemeen Interne Geneeskunde. Hij is een inspirerend onderzoeker waarvan ik wist dat hij grote belangstelling heeft voor de relatie tussen moeheid en infectieziekten.

Samen met dr. Gijs Bleijenberg die medisch psycholoog is, vormden wij een multidisciplinair team dat onder de bezielende leiding van Jos begon aan een onderzoek dat weldra was uitgegroeid tot het succesvolle *Nijmeegse Onderzoek naar het Chronisch Vermoeidheid Syndroom*. Daarnaast startte ik vanuit de Virologie onderzoek naar viruspersistentie bij andere ziekten, waaronder het hartfalen. Dit laatste onderzoek werd uitgevoerd in samenwerking met Professor Dirk Ruiters van de Afdeling Pathologie. Inmiddels was de Virologie versterkt met dr. Willem Melchers, een moleculair bioloog. De moleculaire biologie heeft het vakgebied van de virologie groot gemaakt en met de PCR-techniek een methode voortgebracht waarmee de persistentie van enterovirus was ontdekt.

Onder de krachtige leiding van Willem werd de moleculaire diagnostiek voor enterovirus opgezet. De resultaten van ons onderzoek naar viruspersistentie kunnen kort worden samengevat: geen van de studies heeft ook maar enige aanwijzing opgeleverd voor persistentie van enterovirus.¹²⁻¹⁴ Daarmee had één mogelijke verklaring afgedaan maar bleef de optie van auto-immuniteit. Zodoende werd de aandacht verlegd naar type-1-diabetes, de ziekte die onbetwistbaar een auto-immuunziekte is.

Enterovirus en diabetes

Uit tweelingonderzoek is gebleken dat voor het ontstaan van diabetes naast een erfelijke aanleg ook omgevingsfactoren van belang zijn. Daarbij wordt voornamelijk gedacht aan virussen en voeding. Op epidemiologische gronden is de groep van de enterovirussen als belangrijkste virale factor aangemerkt. Hoe deze virussen een rol spelen, is nog onduidelijk. De epidemiologische relatie suggereert dat ze auto-immuniteit veroorzaken. Het kan echter zijn dat ze alleen maar een co-factor vormen die het proces gaande houdt of versterkt. Diverse mechanismen zijn geopperd waarnaar wij onderzoek doen. Zo kunnen de virussen acuut diabetes veroorzaken wanneer de eilandjes van Langerhans geïnfecteerd raken en vernietigd worden. Hierbij speelt auto-immuniteit echter geen rol.¹⁵ Uit prospectieve studies is gebleken dat er ook een relatie bestaat met het ontstaan van auto-immuniteit.¹⁶ De mogelijke verklaringen hiervoor zijn nogal complex en zal ik u besparen. Voor ingewijden noem ik het mechanisme van *moleculair mimicry*, een kruisreactie tussen virus en β -cellen, waarvoor wij een aanwijzing hebben gevonden.¹⁷ Verder kan een niet-specifieke verstoring van het immuunsysteem optreden, *bystander effect* genoemd. Hierdoor kan het immuunsysteem de controle verliezen over reacties tegen het *self*, die in ieder van ons latent aanwezig zijn. Ook naar dit mechanisme doen wij onderzoek. Als chronische ziekte vormt diabetes een aanzienlijk gezondheidsprobleem. Het is daarom verontrustend dat de incidentie wereldwijd toeneemt zonder dat we begrijpen waarom. Het is onwaarschijnlijk dat dit zou komen door een toename van het aantal enterovirusinfecties, temeer daar diabetes het meest voorkomt in Zweden en Finland, landen met de hoogste hygiënische standaard. Je kunt je afvragen of niet het omgekeerde speelt, of niet een verband bestaat met de preventie en hygiëne, waarbij enterovirus een kans krijgt om in staat wordt gesteld om het enfant terrible te zijn.

Enterovirus: de moleculen spreken

Al snel nadat de PCR was ontwikkeld verschoof de interesse van dr. Willem Melchers in de richting van basaal moleculair onderzoek. Hij startte onderzoek naar de replicatie van enterovirus, waardoor de onderzoekslijn van de Virologie een geheel eigen gezicht kreeg. Het moleculaire onderzoek houdt geen direct verband met de immunologie, maar leert ons hoe een klein virus, dat uit enkele eiwitten en een RNA molecule bestaat, de leiding kan overnemen in een zo complex systeem als een cel. De uitkomst is bekend; productie van nieuw virus en de dood van de cel. Het onderzoek begon met een speurtocht naar het mechanisme van de celdood, waardoor immers persistentie wordt voorkómen. Het richtte zich al snel op een klein viraal eiwit, *p2B* geheten, waarvan de functie nagenoeg onbekend was. In samenwerking met dr. Peter Willems van de Afdeling Biochemie van de

Medische Faculteit heeft onze groep aangetoond dat *p2B* in staat is om alle membranen van een geïnfecteerde cel lek te maken.¹⁸ De schade aan membranen bleek niet alleen verantwoordelijk voor de celdood, maar ook voor het vrijkomen van nieuw virus.

Opheldering van de eiwitstructuur van *p2B* leverde een mogelijke verklaring voor de activiteit. Het eiwit zou zich in membranen nestelen en daarin kanaaltjes of poriën vormen waardoor de inhoud naar buiten kan.¹⁸ Vreemd genoeg is de celschade niet nadelig maar juist nodig voor replicatie van het virus. De verandering van de membranen blijkt een functie te vervullen bij de vorming van het zogeheten replicatie-complex waarbinnen RNA-moleculen voor nieuw virus worden gesynthetiseerd. Het huidige onderzoek heeft betrekking op dit proces. De volgende stap in de virusreplicatie is de synthese van nieuw RNA. Dit proces start met de vorming van een "negatieve" RNA-streng die complementair is aan het "positieve" RNA dat het genoom vormt (het "*bad news*"). Men veronderstelde dat de ruimtelijke structuur van het RNA zelf een rol speelt maar verder was ook hiervan weinig bekend. Recent heeft onze groep de driedimensionale structuur van het 3' uiteinde van het RNA-genoom opgehelderd.¹⁹ Essentieel voor de vorming van de complexe RNA-structuur bleek het bestaan van een interactie tussen twee RNA-lussen die "*Kissing Interaction*" werd gedoopt. De *kissing interaction* is bepalend voor de tertiaire structuur van het RNA. Deze structuur heeft een specifieke biologische functie welke nu wordt onderzocht.

Wat is nu zo belangrijk aan dit moleculaire onderzoek? Het levert inzicht in de pathogenese van virusinfecties, waaronder het ontstaan van celdood. Ook biedt het perspectieven voor toekomstige therapie. Wat ons uiteindelijk het meest fascineert, is het inzicht dat er door ontstaat in de werking van de cel. Het is uiteindelijk niet het virus dat repliceert, ook al spreken we gemakshalve zo, maar de cel die virus maakt. Bij dat proces worden cellulaire mechanismen geëxploiteerd die allang bestaan maar vaak nog onbekend zijn. Door de sterk reductionistische aanpak van virusonderzoek kunnen dergelijke onbekende processen aan het licht komen. Een bekend voorbeeld is de ontdekking van de *oncogenen* door de bestudering van kankerverwekkende virussen. Zo staan de virussen model voor het moderne celbiologisch onderzoek binnen de *Molecular Life Sciences*, het wetenschapsgebied dat door onze Universiteit op unieke wijze is gestimuleerd met de bouw van de prestigieuze researchtoeren waarin het *Nijmegen Centre for Molecular Life Sciences* (NCMLC) is ondergebracht. Voor dit voor ons zo belangrijke initiatief wil ik hier graag mijn grote waardering uitspreken. Daarmee wil ik voor even het pad van het moleculaire werk verlaten en de draad oppakken van virussen en het immuunsysteem.

De paradox van preventie

In onze strijd tegen de virussen is het immuunsysteem uiteindelijk de trouwste bondgenoot. Immers, de vaccinaties zijn erop gebaseerd. De ontwikkeling van vaccins die al voorzichtig was ingezet door Jenner (1798) en Pasteur (1885), maakt sinds de tweede helft van de vorige eeuw een ware bloei door. Het Rijksvaccinatieprogramma kwam op gang met een reeks inenting, eerst tegen de pokken en tegen polio en later ook tegen de bof, de mazelen en de rode hond (BMR). Inenting bleek zo effectief, dat inmiddels het pokvirus is verdwenen, het poliovirus binnenkort is uitgeroeid en het mazelenvirus de volgende kandidaat is voor uitroeiing.

Met deze ontwikkeling en de aandacht voor hygiëne raken we verlost van de meest schadelijke ziekten. Zo krijgt ons immuunsysteem ook minder om handen en rijst de vraag of daaraan geen nadelen zijn verbonden. Per slot van rekening heeft het immuunsysteem zich eeuwenlang aangepast aan infecties die in enkele decennia zijn verdwenen. Inderdaad zijn er tekenen dat de preventie een prijs vraagt, een fantoempijn van een immuunsysteem dat zonder werk zit. Zo is gebleken dat onder kinderen die op natuurlijke wijze mazelen doormaken minder allergie of hooikoorts voorkomt dan onder gevaccineerde kinderen.²⁰ Ook tuberculose, een ziekte met vergelijkbare effecten op het immuunsysteem, lijkt 'bescherming' te bieden tegen allergische aandoeningen.²¹ Al eerder was gebleken dat hooikoorts minder voorkomt in grote gezinnen die doorgaans minder zindelijk zijn dan de kleine.²² Verder was in muizen gebleken dat diabetes kan worden voorkómen door ze jong met een virus te besmetten.²³ Algemeen heerst de veronderstelling dat de toename van allergie en auto-immuunziekten te wijten is aan de vervuiling van het milieu. Na de val van de Berlijnse muur werd dit in het sterk vervuilde Oost Duitsland onderzocht. Tot ieders verrassing heerste er veel minder astma of allergie dan in het westen. Daarnaast bleek dat er meer infecties voorkwamen. Er heersten nog volop kinderziekten en andere infecties die de kinderen in crèches opliepen waar ze al vroeg naar toegebracht werden zodat de moeder kon werken. Ook dit onderzoek wijst op een effect van de westerse levensstijl, waarbij primair de hygiëne en preventie verdacht zijn, méér dan het verontreinigde milieu. Zo ontstaat een beeld van het immuunsysteem dat, ontdaan van essentiële prikkels, op zoek gaat naar een uitdaging en die vindt in zinloze acties tegen zich zelf. Dit fenomeen staat te boek als de "Hygiëne Hypothese".²⁴ Het is een hypothese, dus nog geen vaststaand feit. Met de westerse levensstijl zijn immers vele veranderingen gemoeid, zodat men niet te snel conclusies mag trekken. Chronische ziekten vormen

echter een zware last, wat rechtvaardigt om de hypothese grondig te onderzoeken.

Welke antwoorden kan de wetenschap bieden? Natuurlijk moet het verband bevestigd en beter begrepen worden. Er is geopperd dat de balans is verstoord tussen enerzijds de vorming van cytokinen (*IL-12*) en interferonen (*IFN- α* die van belang zijn bij virusinfecties (*Th-1-response*) en anderzijds de cytokinen (*IL4*, *IL10*) die allergie stimuleren (*Th-2-response*).²⁴ De afkortingen zijn voor de verstaander, voor mijn betoog zijn ze niet essentieel. De genetici zullen tegenwerpen dat ook zij afwijkingen hebben gevonden, maar daarop is mijn antwoord dat de genetische selectie juist heeft plaatsgevonden door de plagen die nu zijn bestreden, bovenal de ernstige ziekten zoals de mazelen en tuberculose. Ik ben me bewust dat ik alles simpeler heb voorgesteld dan in werkelijkheid en dat geldt ook voor de te volgen strategie. Infectieziekten terughalen is ondenkbaar en mijns inziens onnodig. Waarschijnlijk zijn we in de nabije toekomst in staat om het immuunsysteem te genezen, het te leren om zich weer te gedragen als in de tijd van de grote pestilentien. Hoe zou dat kunnen? Interferon en cytokinen kun je toedienen, bijvoorbeeld via een vector. Een vector bestaat uit erfelijk materiaal dat in weefsels (cellen) kan repliceren en ter plekke wordt vertaald in eiwit en dat is nu juist wat virussen doen. In feite zijn het vectoren met de verkeerde boodschap, namelijk een ziekte. Door een virus genetisch te manipuleren kan het getransformeerd worden in een vector die bijvoorbeeld een cytokine gaat maken. Zo heeft onze groep in de afgelopen jaren van het poliovirus met succes een vector gemaakt voor vaccinatie tegen het humaan papillomavirus.²⁵ De uitdaging voor de toekomst zal zijn om vectoren te maken die de cytokinen produceren welke wij door preventie zo node zijn gaan missen. Daarmee kunnen allergie en auto-immuniteit worden tegengegaan en wordt de fantoempijn uiteindelijk met een virus bestreden. Hiermee is de cirkel rond. Het kwaad wordt met de kiem gesmoord!

Literatuur

- Zinsser H. Rats Lice and History. 1934. Macmillan. ISBN 0-333-39567-0.
- McNeill WH. Plagues and Peoples. 1976. Anchor Books. ISBN 0-385-12122-9.
- Medawar PB and JS Medawar. Aristotle to Zoos. 1983, Cambridge University Press.
- Mak G. De eeuw van mijn vader. 1999, Atlas. ISBN 90-450-0127-6.
- Fenner F, Ratcliffe FN. Myxomatosis. 1965, Cambridge University Press.
- Oldstone MBA. Viruses Plagues and History. 1998. Oxford University Press. ISBN 0-19-511723-9.
- Von Pirquet CE. Das Verhalten der kutanen Tuberkulinreaction während der Masern. Deutsches Med Wochenschr 1908;34:1297-30.
- Lucas CJ, JMD Galama, J Ubels-Postma. Measles virus-induced suppression of lymphocyte reactivity in vitro. Cell Immunol 1977;32:70-85.
- Galama JMD, J Ubels-Postma, A Vos, CJ Lucas. Measles virus inhibits acquisition of lymphocyte functions but not established effector functions. Cell Immunol 1980;50:405-15.
- Lucas CJ, J Ubels-Postma, A Rezee, JMD Galama. Activation of measles virus from silently infected human lymphocytes. J Exp Med 1978;148:940-52.
- Galama JMD. Cell-mediated resistance to measles virus: A study on virus-induced immunosuppression and on the destruction of virus-infected cells. Thesis, 1979 RODOPI, Amsterdam.
- Swanink CMA, WJG Melchers, JWM van der Meer, et al. Enteroviruses and the chronic fatigue syndrome. Clin Infect Dis 1994;19:860-4.
- Melchers WJG, M de Visser, PJ Jongen, et al. The post-polio syndrome: No evidence for poliovirus persistence. Ann Neurol 1992;32:728-32.
- Leeuw N de, WJG Melchers, AHMM Balk, N de Jonge, JMD Galama. No evidence for persistent enteroviral infection in patients with end-stage idiopathic dilated cardiomyopathy. J Infect Dis 1998;178:256-9.
- Vreugdenhil GR, NC Schloot, A Hoorens, et al. Acute onset of type 1 diabetes mellitus after severe Echovirus 9 infection: putative pathogenic pathways. Clin Infect Dis 2000;31:1025-31.
- Lönrot M, K Korpela, M Knip, et al. Enterovirus infection as a risk factor for beta-cell autoimmunity in a prospectively observed birth cohort. Diabetes 2000;49:1314-8.
- Vreugdenhil GR, A Geluk, THM Ottenhof, WJG Melchers, BO Roep, JMD Galama. Molecular mimicry in diabetes mellitus: the homologous domain in Coxsackie B virus protein 2C and islet autoantigen GAD65 is highly conserved in the Coxsackie B-like enteroviruses and binds to the diabetes associated HLA-DR3 molecule. Diabetologia 1998;41:140-6.
- Kuppeveld FJM van, J Hoenderop, R Smeets, et al. Coxsackievirus protein 2B is a viroporin that mobilizes Ca²⁺ from the endoplasmic reticulum and facilitates virus release. EMBO J 1997;16:3519-32.
- Melchers WJG, J Hoenderop, H Bruins-Slot, et al. Kissing of the two predominant hairpin-loops in the Coxsackie B virus 3'UTR is the essential structural feature of the origin of replication required for (-) strand RNA synthesis. J Virol 1997;71:686-96.
- Shaheen SO, P Aaby, AJ Hall, et al. Measles and atopy in Guinea-Bissau. Lancet 1996;347:1792-6.
- Shirakawa T, T Enomoto, S Shimazu, JM Hopkin. The inverse association between tuberculin responses and atopic disorder. Science 1997;275:77-9.
- Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. Br Med J 1989;299:1259-60.
- Oldstone MBA. Prevention of type 1 diabetes in nonobese diabetic mice by virus infection. Science 1988;239:500-2.
- Rook GAW, JL Stanford. Give us this day our daily germs. Immunol Today 1998;19:113-6.
- Kuppeveld FJM, A de Jong, HB Dijkman, et al. Prospects for a prophylactic HPV vaccine: Poliovirus vaccine vector expressing HPV 16 virus-like particles elicit a humoral immune response in mice. Submitted.

Traceren van virale voedselinfecties met behulp van een Europees netwerk

M.P.G. KOOPMANS, H. VENNEMA

Voedselinfecties door Norwalk-achtige virussen (NLV) en hepatitis-A-virus (HAV) worden in toenemende mate gesignaleerd als een probleem, ook in Nederland. Ten gevolge van veranderingen in de voedselproductie en -consumptie en door demografische veranderingen is het risico van grotere internationale epidemieën toegenomen. Bovenstaande trends zijn aanleiding geweest voor een Europees onderzoeksproject tussen 12 laboratoria in 9 landen. Doelstelling is het ontwikkelen van een gestandaardiseerde aanpak van het onderzoek naar de epidemiologie en transmissieroutes van deze virussen, om daarmee een betere schatting te kunnen maken van het percentage infecties dat aan voedselbesmetting is toe te schrijven. Om een mogelijk epidemiologisch verband beter te kunnen onderkennen is in het Europese onderzoek een databank ontwikkeld waarin epidemiologische en virologische informatie wordt opgenomen.

Trefwoorden: databank, epidemiologie, voedselinfectie, Norwalk, hepatitis A

Voedselinfecties door virussen worden in toenemende mate gesignaleerd als een probleem, ook in Nederland.^{1,2} Dit is grotendeels toe te schrijven aan de verbeterde mogelijkheden voor diagnostiek van de belangrijkste virale voedselinfectie, namelijk die met Norwalk-achtige virussen (NLV, ook wel small round structured viruses (SRSV) genoemd). Daarnaast wordt verondersteld dat er een werkelijke toename in de incidentie heeft plaatsgevonden, onder andere ten gevolge van veranderingen in de voedselproductie en -consumptie (schaalvergroting en toename van de consumptie van gecaterde maaltijden).³ Daarmee is het risico van grotere internationale epidemieën toegenomen.

De belangrijkste virussen die in verband worden gebracht met deze transmissieroute zijn de NLV en hepatitis-A-virussen (HAV), waarbij de oorzaak voor beide virussen verschilt.⁴ De NLV zijn berucht vanwege de hoge besmettelijkheid en de hoge incidentie, hetgeen resulteert in grote aantallen – vrij milde – ziektegevallen (naar schatting 500.000 sporadische gevallen in Nederland per jaar en tientallen epidemische verheffingen).² Voedselinfecties door NLV komen veelvuldig voor en zijn vaak te herleiden tot besmettingen tijdens de bereiding, waarbij niet altijd iets is aan te merken op de hygiëne. Hepatitis A komt veel minder vaak voor, en wordt niet vaak gediagnosticeerd als voedselinfectie, misschien ook omdat de diagnose niet eenvoudig te stellen is door de lange incubatietijd en de lagere kans op overdracht van hepatitis A. Daar staat tegenover dat de immuniteit van de populatie tegen hepatitis-A-virus afneemt, waarmee de kans op epidemieën na introductie van virus bijvoorbeeld via reizigers of via voedsel stijgt.^{5,6}

De stijgende lijn in het aantal voedselinfecties en het wellicht toenemende risico van epidemieën zijn aanleiding geweest voor een Europees samenwerkingsverband van 12 laboratoria in 9 landen (Figuur 1) (EU project QLKI-CT-00594). De doelstelling van dit project is het ontwerp van een gestandaardiseerde aanpak van het onderzoek naar de epidemiologie en

Figuur 1: Europees netwerk voor virale voedselinfecties, met partners in Nederland, Engeland, Frankrijk, Spanje, Italië, Duitsland, Zweden, Denemarken en Finland.



transmissieroutes van deze virussen, om daarmee een betere schatting te kunnen maken van het percentage infecties dat aan voedselbesmetting is toe te schrijven. De afgelopen jaren zijn diverse voedselinfecties door hepatitis A beschreven, waarvan enkele veroorzaakt werden door voedsel dat internationaal gedistribueerd werd (Tabel 1). Bij de stammen afkomstig van enkele epidemieën werden de relaties tussen afzonderlijke gevallen eerst uitsluitend gelegd door vergelijking van de nucleotidesequenties van een deel van het hepatitis-A-genoom. De vrees bestaat dat een voedselgerelateerde epidemie niet of pas in een zeer laat stadium onderkend

Tabel 1. Recente voorbeelden van voedselinfecties veroorzaakt door hepatitis-A-virus.

JAAR	LAND	AANTAL GEVALLEN	SETTING	BRON	OPMERKINGEN	REFERENTIE
1988	China	300.000 (32†)	Bevolking	Oesters		7
1990	VS	110 (2†)	Broodjeswinkel	Afwashulp		8
1991	VS	230	Broodjeswinkel	Voedselbereider	Vroege ziekte-melding index case, geen actie nodig geacht door Health Department	8
1992	VS	11	Fastfoodketen	Voedselbereider		8
1994	VS	91	Voedselbereider	41 gecaterde maaltijden		9
1995*	Canada	16	Gezinnen	Eigen waterput		10
1997	Italië	?	Gezin+school	Oesters	Secundaire transmissie naar schoolkinderen	11
1997*	VS	242	Schoolkinderen	Aardbeien in schoollunch	Kinderen van 36 scholen. Geïmporteerde aardbeien, 1 jaar ingevroren	12
2000	Spanje	183	Bevolking	Oesters	Geïmporteed uit Zuid-Amerika, importstop	13
2000	Luxemburg	25	Personeelsfeest	Gecaterde lunch	Asymptomatisch geïnfecteerde voedselbereider	14

* = epidemiologische data bevestigd door moleculair-biologisch onderzoek

wordt, met name bij een vrij lage besmettingsgraad van grote partijen nationaal of internationaal verspreid voedsel. Om een mogelijk epidemiologisch verband beter te kunnen onderkennen is in het Europese onderzoek een databank ontwikkeld waarin epidemiologische en virologische informatie wordt opgenomen. Op basis van overeenkomsten van nucleotidesequenties kan worden onderkend of er wellicht een internationale samenhang bestaat. Belangrijke aspecten van dit samenwerkingsproject zijn standaardisatie van diagnostiek en van epidemiologische data, afspraken over actieve uitwisseling van informatie en snelle rapportage van informatie via de centrale databank. Door de databank voor en via partners in het project toegankelijk te maken proberen wij dit soort informatie vroeger dan nu het geval is te aggregeren. Voor de databank met sequenties van HAV zal eerst – in een samenwerking tussen de GGD Amsterdam en het RIVM – een inventarisatie worden gemaakt van de circulerende virussen in Europa, als achtergrond voor de detectie van eventuele voedselinfecties.

Summary

Foodborne infections caused by Norwalk-like viruses (NLV) and hepatitis-A-virus (HAV), are increasingly recognised, also in The Netherlands. The likelihood of occurrence of large, international foodborne virus outbreaks is increased due to changes in production and consumption of foods and as a result of demographic changes. These trends were grounds for a European research project between 12 laboratories in 9 countries. The objective is to develop a standardised approach for research addressing the epidemiology and modes of transmission in order to provide better estimates of the proportion of infections that can be attributed to foodborne viruses. We developed a database of epidemiological and virological information to recognise possible common source outbreaks at an early stage.

M.P.G. Koopmans, dierenarts-viroloog,

H. Vennema, moleculair bioloog,

beiden RIVM, Laboratorium voor Infectieziekteonderzoek, Antonie van Leeuwenhoeklaan 9, 3720 BA Bilthoven

Literatuur

- Vinje J, Altena S, Koopmans M. The incidence and genetic variability of small-round structured viruses (SRSV) in outbreaks of gastroenteritis in The Netherlands. *J Infect Dis* 1997;176:1374-8.
- Koopmans M, Vinje J, Wit M de, Leenen I, Poel W van der, Duynhoven Y van. Molecular epidemiology of human enteric caliciviruses in The Netherlands. *J Infect Dis* 2000;181:S262-9.
- Motarjemi Y, Käferstein F., Moy G., Miyagishima K., Miyagawa S., Reilly A. Food technologies and public health. 1995;WHO/FNU/FOS/95.12
- Codex Alimentarius, committee on food hygiene. Discussion paper on viruses in food. FAO/WHO document CX/FH 99/11, Rome, 1999.
- Melker H de, Peet T van der, Berbers G, Akker R van de, Knapen F van, Schellekens J, et al. Pilot-study for the PIENTER project: seroprevalence of mumps, measles, rubella, *Bordetella pertussis*, *Toxoplasma gondii*, *Trichinella spiralis*, and hepatitis A. RIVM report 1995; 213675004 (in Dutch).
- Koopmans M, Bruisten S, van Steenberg J, Bosman A. Hepatitis A infecties via voedsel: een probleem in Nederland? *Infectieziektebulletin* 2000;11:221-5.
- Halliday ML, Kang LY, Zhou TK, Hu MD, Pan QC, Fu TY, et al. An epidemic of hepatitis A attributable to the ingestion of raw clams in Shanghai, China. *J Infect Dis* 1991;164:852-9.
- Skala M, Collier C, Hinkle CJ, Donnell HD. Food-borne hepatitis A – Missouri, Wisconsin, and Alaska, 1990-1992. *MMWR* 1993;42:526-9.
- Massoudi MS, Bell BP, Paredes V, Insko J, Evans K, Shapiro CN. An outbreak of hepatitis A associated with an infected foodhandler. *Public Health Rep* 1999;114:157-64.
- De Serres G, Cromeans TL, Levesque B, Brassard N, Barthe C, Dionne M, et al. Molecular confirmation of hepatitis A virus from well water: epidemiology and public health implications. *J Infect Dis* 1999;179:37-43.
- Leoni E, Bevini C, Degli Esposti S, Graziano A. An outbreak of intrafamilial hepatitis A associated with clam consumption: epidemic transmission to a school community. *Eur J Epidemiol* 1998;14:187-92.
- Hutin YJ, Pool V, Cramer EH, Nainan OV, Weth J, Williams IT, et al. A multistate, food-borne outbreak of hepatitis A. National Hepatitis A Investigation Team. *N Engl J Med* 1999;340:595-602.
- Bosch A, Sanchez G, LeGuyader F, Vanaeloch A, Haugarreau L, Pinto RM. Human enteric viruses in Coquina clams associated with a large hepatitis A outbreak. *International Water Association, HRM abstract* 3, 15, 2000.
- Hemmer R, Hansen-Koenig D. Outbreak of hepatitis A in Luxembourg, *Eurosurveillance Weekly* 33 <http://www.eurosurv.org/update/2000>.

Vloeibare stikstof in de Tropen

In het kader van een bilaterale samenwerking tussen de Ethiopische en Nederlandse overheid wordt binnen het 'Ethiopia-Netherlands AIDS Research Project' (ENARP) onderzoek gedaan naar het natuurlijke beloop van HIV en AIDS in de Ethiopische setting. Hiertoe zijn onder andere in 1997 prospectieve cohortstudies gestart.^{1,2} De laboratoria die de biomedische basis vormen voor dit onderzoek, worden aangestuurd door een Ethiopische en een expatriate laboratoriummanager. Dat het leven van een arts-microbioloog als expatriate laboratoriummanager op een HIV-onderzoeksproject in Addis Abeba anders is dan dat van een collega op een microbiologisch laboratorium in Nederland zal niemand betwijfelen. Gedurende de eerste maand in mijn nieuwe functie, werd ik geconfronteerd met een stikstofplant die iedere dag tien liter minder vloeibare stikstof produceerde. Na een paar dagen was de productie gedaald tot nul. Alle kostbare PBMC's in de stikstofvaten, verzameld vanaf de start van het onderzoek, werden acuut bedreigd! Gelukkig blijkt vloeibare stikstof ook in Ethiopië te koop: na wat onderhandelen konden vaten worden aangevoerd via een collega-researchinstituut en de Department Artificial Insemination van het Ministry of Agriculture. De stikstofplant, die in een container op het terrein staat waar het project is gehuisvest, is van Amerikaanse makelij en moet door ons zelf geserviced en onderhouden worden. De consultant-ingenieur, die ons bij dergelijke 'huis, tuin en keuken'-klussen terzijde staat, weet de gestage productie-afname van onze plant aan de ijle lucht in Addis Abeba – wij leven en werken op 2.500 m hoogte. Inmiddels ben ik erachter dat dit een veelgebruikte verklaring is voor ieder apparaat dat het begeeft: een computer, laminar flow-kast, -80 °C freezer: "it is because of the height, my dear". Een stikstofplant haalt stikstof uit de lucht via een aircompressor en oxygen separator om vervolgens de stikstof vloeibaar te maken en in die vorm op te slaan. Een logische verklaring dan de ijle lucht, was een lek in het vacuüm van het dubbelwandige stikstofvat, dat na twee weken wachten op de cruciale reserveonderdelen weer hersteld kon worden. De cellen waren gered!

Mw. dr. J.W. Dorigo-Zetsma, Expatriate Laboratory Manager ENARP, P.O. Box 1242, Addis Abeba, Ethiopie

Literatuur

1. Sanders EJ, Rinke de Wit TF, Fontanet AL, Goudsmit J, Miedema F, Coutinho RA. 'Ethiopia-Netherlands aids research project'. Ned Tijdschr Geneesk 2001;26:1261-5.
2. Rinke de Wit TF, Sanders EJ, Fontanet AL, Goudsmit J, Miedema F, Coutinho RA. Resultaten van het 'Ethiopia-Netherlands aids research project'; 1995-2000. Ned Tijdschr Geneesk 2001;26:1236-40.

WERKGROEPEN EN VERENIGINGEN

Werkgroep 'Field research international health'

Op 17 oktober is in Nijmegen de werkgroep voor veldwerk in internationaal gezondheidsonderzoek opgericht. Doelen zijn het versterken van een multidisciplinaire wetenschappelijke discussie over dit onderwerp en het vereenvoudigen van veldwerk door onderlinge ondersteuning. Daartoe wordt een website en een internetdiscussiegroep geopend. Doelgroepen zijn medewerkers van Nederlandse onderzoeksinstituten die zich bezighouden met internationaal gezondheidsonderzoek. Infectieziekten zijn nu relatief sterk vertegenwoordigd, maar uitbreiding met andere onderzoeksgebieden is van belang voor een sterke organisatie.

De oprichtingsvergadering is op 17 december in Utrecht om 15.00 uur (op te geven via onderstaand adres). De eerste wetenschappelijke conferentie in internationaal gezondheidsonderzoek wordt georganiseerd in Utrecht op 23 mei 2002, en deze wordt ondersteund door de Nederlandse Vereniging van Tropische Geneeskunde.

Inf: Mike van der Kolk (UMC Nijmegen Parasitologie); e-mail: m.vanderkolk@mmb.azn.nl.

Opleiding tot medisch-microbiologisch analist

Voor de bedrijfsvoering van de laboratoria zijn analisten een buitengewoon belangrijk onderwerp. Het niet kunnen vervullen van vacatures vormt een directe bedreiging voor de continuïteit. De problemen voor het vervullen van vacatures voor analisten nemen toe, te oordelen naar de persoonlijke ervaringen en die van enkele briefschrijvers. Dit is onder meer het gevolg van het tekort aan instroom in de scholen. Daarnaast is het aantal opleidingen in het land afgenomen; scholen zijn autonoom in de keuze van hunopleidingen en kennelijk is deze opleidingsrichting niet voldoende doelmatig. De commissie rekent het tot haar taak de opleidingen te inventariseren in aantal en ordehoogte. Om daarbij van vol-

ledige gegevens te worden voorzien wil ze graag in contact komen met leden die op enige manier verbonden zijn aan een opleiding. De commissie wil met de scholen overleg voeren over de opleiding, de motivatie van studenten en het tekort aan schoolverlaters dat in delen van het land optreedt. Leden die zich aangesproken voelen, kunnen contact opnemen met R.W. Bosboom, R.W. Brimicombe, P.J. Kabel of J.A. Kaan.

Namens de Commissie Laboratoriumonderwijs,

J.A. Kaan, *Diakonessenhuis, Afdeling Medische Microbiologie, Postbus 80250, 3508 TG Utrecht*

Accreditatie van medisch-microbiologische laboratoria: de stand van zaken

Accreditatie van laboratoria is buiten de gezondheidszorg een zo langzamerhand niet meer weg te denken kwaliteitsinstrument. Bij het accreditatieproces wordt extern (door de Raad voor Accreditatie) beoordeeld of een laboratorium voldoet aan gestelde eisen betreffende kwaliteitssysteem, methode van werken en borging van de in het laboratorium verrichte werkzaamheden. In de gezondheidszorg wordt het proces van accreditatie van laboratoria verzorgd door de stichting CCKL. Na de recente fusie van CCKL en CCKL-test participeert de NVMM weer in de CCKL. Op korte termijn kunnen de eerste (proef-)accreditaties van medisch-microbiologische laboratoria verwacht worden. In dit artikel proberen wij de lezer op de hoogte te brengen van de ontwikkelingen op het gebied van de accreditatie van medisch-microbiologische laboratoria.

Een medisch-microbiologisch laboratorium dat een kwaliteitssysteem wil opzetten doet dat op basis van normen. Door de CCKL, waarin alle laboratoriumdisciplines en organisaties voor externe kwaliteitsbewaking, waaronder de NVMM en SKMM, zijn vertegenwoordigd, is de praktijkrichtlijn laboratoria gezondheidszorg opgesteld. In de praktijkrichtlijn staan 15 normen gebaseerd op 'laboratoriumcriteria' NEN-EN-45001 met speciale aandacht voor interpreteren van en consulten over laboratoriumonderzoek. De eerste druk is verschenen in 1991, de tweede druk in 1994 en de derde druk in 1999. Op basis van de praktijkrichtlijn (versie 2) is in 1995 het model kwaliteitshandboek medische microbiologie uitgegeven door de NVMM. In dit model kwaliteitshandboek zijn de normen uit de praktijkrichtlijn uitgewerkt naar voorbeeld van een fictief 'Model-laboratorium'. Veel laboratoria werken aan of hebben inmiddels een kwaliteitssysteem op basis van het van de praktijkrichtlijn afgeleide model kwaliteitshandboek.

Accreditatie door de CCKL gebeurt op basis van drie pijlers: het systeem (de organisatie), het product of de dienst (deelname aan de rondzendingen is belangrijk om inzicht te krijgen in de kwaliteit van het product van een laboratorium) en de professionaliteit van de beroepsuitoefening. Op alle drie deze hoofdpunten wordt beoordeeld. In de visie van de commissie kwaliteit en van de algemene visitatiecommissie komen vakinhoudelijke aspecten op twee plaatsen aan de orde. Ten eerste op het laboratorium. Gedacht moet worden aan keuze

en uitvoering van de diagnostische testen. Toetsing hiervan zou moeten vallen onder de arts-microbioloog die deel uitmaakt van audit-team van de CCKL. Ten tweede bij de beroepsuitoefening, die getoetst wordt door de algemene visitatiecommissie. De CCKL eist voor het toekennen van een accreditatie deelname van de laboratoriumspecialist aan de visitaties door de beroepsvereniging. Voor de arts-microbioloog betekent dat in praktijk een visitatie volgens het stramien van de Orde van Medisch Specialisten door de visitatiecommissie van de NVMM. Uitdrukkelijk is ervoor gekozen de trajecten van visitatie en accreditatie niet te laten vervlechten. Zo heeft en houdt de NVMM op beide vakinhoudelijke fronten een belangrijke inbreng.

Concreet betekent het bovenstaande dat medisch-microbiologische laboratoria die een kwaliteitssysteem willen opzetten en uiteindelijk een accreditatie willen verkrijgen van een door de NVMM erkende instantie, het systeem moeten opzetten op basis van de meest actuele versie (nu versie 3) van de praktijkrichtlijn CCKL.

Deze richtlijn bevat normen die gelden voor alle laboratoriumdisciplines. Deze normen zijn derhalve algemeen: niet alle vereisten zijn voor alle laboratoria van toepassing en het is denkbaar dat een aantal vereisten, specifiek voor medisch-microbiologische laboratoria, zou kunnen worden toegevoegd. Belangrijk voordeel is dat de praktijkrichtlijn gebaseerd is op Europese normen en aangepast wordt aan nieuwe ontwikkelingen in een tempo waar de NVMM niet aan kan voldoen. In samenspraak met de CCKL wordt op dit moment door de commissie kwaliteitsbevordering gewerkt aan de invulling en uitwerking van de praktijkrichtlijn voor medisch microbiologische laboratoria. Hierbij zal de eigenheid van het vak medische microbiologie niet uit het oog verloren worden. In een later artikel zal op de deze uitwerking worden teruggekomen.

Namens de Commissie Kwaliteit,

Dr. R. Roosendaal, *VU Medisch Centrum, Afdeling Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Postbus 7057, 1007 MB Amsterdam*
Dr. A.G.M. Buiting, *Streeklab voor de volksgezondheid, Postbus 747, 5000 AS Tilburg*

Nieuwe aanmeldingen NVMM

- M.J. Becker, Erasmus Medisch Centrum Rotterdam, Afd. Medische Microbiologie & Infectieziekten, Postbus 2040, 3000 CA Rotterdam
- P.D. Croughs, Vestdijkstraat 24, 4561 AG Hulst
- Dr. R.M.H.G. Huits, Oudeweg 7 E, 9711 TJ Groningen
- H.F. Berg, Streeklaboratorium voor de Volksgezondheid, Postbus 747, 5000 AS Tilburg
- Mw. A. Riezebos-Brilman, Westersingel 35 A, 9718 CC Groningen
- J. Gooskens, Leids Universitair Medisch Centrum, Afd. Medische Microbiologie, Postbus 9600, 2300 RC Leiden

Adreswijzigingen

- A.P. van Dam, Leids Universitair Medisch Centrum, Afd. Medische Microbiologie, Postbus 9600, 2300 RC Leiden (voorheen Ziekenhuis De Heel te Zaandam)
- Dr. B.I. Davies, 2 Stair Park, North Berwick, EH 39 4 DD, Schotland (voorheen wonend te Heerlen)
- Mw. dr. G. Kampinga, Laboratorium voor de Volksgezondheid in Friesland, Postbus 21020, 8900 JA Leeuwarden (voorheen Academisch Ziekenhuis Groningen)
- N.H.M.T. Peperkamp, Gezondheidsdienst voor Dieren, Postbus 9, 7400 AA Deventer (voorheen Gezondheidsdienst voor Dieren Zuid-Nederland, Bostel)
- Dr. M.V. Jacobs, Organon Teknika BV, Boseind 15, 5281 RM Bostel (voorheen RIVM, Bilthoven)
- B.T. Lim, Twintighoevenweg 7, 3312 LS Dordrecht (voorheen Regionaal Laboratorium Medische Microbiologie, Dordrecht)
- Mw. dr. C.E. Visser, SSDZ, Reinier de Graef Groep, Afd. Medische Microbiologie, Postbus 5010, 1600 GA Delft (voorheen Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden)

PROMOTIES

27 juni 2001 - P. Meij

Humoral and cell-mediated immune responses directed against Epstein-Barr virus-encoded tumour-associated proteins.
Promotoren: prof. dr. J.M. Middeldorp, prof. dr. C.J.L.M., Meijer. Vrije Universiteit Amsterdam, Fac. Geneeskunde, afd. Pathologie.

5 september 2001 - M.E. van Praag

Anatomical and cellular reservoirs for HIV-1 during potent anti-retroviral therapy.
Promotor: prof. dr. J.M.A. Lange. Co-promotoren: dr. J.M. Prins, dr. H. Schuitemaker. Universiteit van Amsterdam, AMC, Nationaal AIDS Therapie Evaluatie Centrum.

28 september 2001 - M.R. Vriens

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clinical impact and explanations for colonization.
Promotoren: prof. dr. Chr. van der Werken, prof. dr. J. Verhoef. Co-promotor: dr. A. Fluit. Universitair Medisch Centrum Utrecht, afd. Heelkunde, Eijkman-Winkler Instituut voor Microbiologie.

23 oktober 2001 - C.E. Shulman

Malaria and anaemia in pregnancy.
Promotoren: prof. dr. P.J. Brabin, prof. dr. P.A. Kager. Co-promotoren: prof. dr. F. Cutts, prof. dr. K. Marsh. Universiteit van Amsterdam, AMC, afd. Tropische Kindergeneeskunde.

13 november 2001 - E.G. Zoetendal

Molecular characterization of bacterial communities in the human gastrointestinal tract.
Promotor: prof. dr. W.M. de Vos. Wageningen Universiteit, lab. voor Microbiologie.

21 november 2001 - N.P.W.C.J. van den Braak

Glycopeptide resistant enterococci in the Netherlands, surveillance and genome analysis.
Promotor: prof. dr. H.A. Verbrugh. Co-promotoren: Dr. H.Ph. Endtz, Dr. A.F. van Belkum. Erasmus universitair Medisch Centrum Rotterdam, afd. Medische Microbiologie & Infectieziekten.

30 november 2001 - K.E. Veldkamp

Chemotaxis inhibitory protein of *Staphylococcus aureus*.
Promotor: prof. dr. J. Verhoef. Co-promotoren: dr. J.A.G. van Strijp, dr. C.P.M. van Kessel. Universitair Medisch Centrum Utrecht, Eijkman-Winkler Instituut voor Microbiologie.

13 december 2001 - M.J. Blok

Monitoring the course of CMV infection by detection of specific viral transcripts.
Promotoren: prof. dr. C.A. Bruggeman*, prof. dr. J.M. Middeldorp**. Co-promotor: dr. C. Vink.
*Universiteit Maastricht, capaciteitsgroep Medische Microbiologie;
**Vrije Universiteit Maastricht, vakgroep Pathologie.

17 december 2001 - C.L.C. Wielders

The dissemination of resistance to β -lactam and other antibiotics among *Staphylococcus aureus*.
Promotor: prof. dr. J. Verhoef. Co-promotor: dr. A.C. Fluit. Universitair Medisch Centrum Utrecht, Eijkman-Winkler Instituut voor Microbiologie.

17 mei 2002 - S. Kuipers

The ancient complementing system in physiology and defence.
Promotor: prof. dr. H. van Dijk. Co-promotor: prof. dr. J. Verhoef. Universitair Medisch Centrum Utrecht, Eijkman-Winkler Instituut, Afd. Medische Microbiologie

AFSCHEIDSREDES**29 november 2001 - prof. dr. M.C. Horzinek**

Big is powerful.
Hoogleraar in de Virologie en Virusziekten, Universiteit Utrecht, Faculteit Diergeneeskunde, afd. Infectieziekten en Immunologie.

29 november 2001 - prof. dr. Ir. F.M. Rombouts

Microbiële voedselveiligheid in een dynamische samenleving.
Hoogleraar in de Levensmiddelenhygiëne en -microbiologie, Universiteit Wageningen, lab. voor Levensmiddelenmicrobiologie.

* NIEUW

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: www.escv.org.

12 FEBRUARI 2002:*

Symposium "Food for thought": voedselgerelateerde zoönosen,

Amsterdam, georganiseerd door de Nederlandse Vereniging van Arts-assistenten Medische Microbiologie (NVAMM). Inf.: Mw. dr. I.J.B. Spijkerman of Mw. Drs. C.J. Schinkel, Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC), afdeling Medische Microbiologie. Tel.: (071) 526 91 11, e-mail: i.j.b.spijkerman@lumc.nl.

27 MAART 2002:*

Symposium **'Tuberculose: een multidisciplinair probleem'**, Nijmegen. Inf.: M.J. Boeree en W.C.M. de Lange, longartsen, Universitair Medisch Centrum St. Radboud, locatie Dekkerswald, Nijmegen.

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.

9 - 10 APRIL 2002:

Voorjaarsvergadering Nederlandse Vereniging voor Microbiologie,

Papendal. Inf.: Dr. E. Boel, Stichting PAMM, Laboratorium voor Medische Microbiologie, Postbus 2, 5500 AA Veldhoven. Tel.: (040) 258 81 00, fax: (040) 258 81 12.

15 - 19 APRIL 2002:*

Cursus 'International Course on Laboratory Methods for the Diagnosis of Leptospirosis',

Amsterdam. Inf.: Dr. R.A. Hartskeerl, Head Leptospirosis Reference Laboratory, KIT Biomedical Research, Meibergdreef 39, 1105 AZ Amsterdam. Tel.: (020) 566 54 54, fax: (020) 697 18 41, e-mail: BiomedicalResearch@kit.nl, Internet: http://www.kit.nl/biomedical_research/html/body_course.asp.

24 - 27 APRIL 2002:

12th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID 2002),

Milaan, Italië. Inf.: Administrative Secretariat, c/o AKM Congress Service, Basel, Zwitserland. Tel.: +41 61 686 7711, fax: +41 61 686 7788, e-mail: info@akm.ch, Internet: www.esccmid.org/eccmid2002.

5 - 8 MEI 2002:

4th European Congress of Chemotherapy and Infection (ECC),

Parijs, Frankrijk. Inf.: Congrex Sweden AB, Stockholm, Zweden. Tel.: +46 8459 6600, fax: +46 8 661 9125, e-mail: congrex@congrex.se, Internet: www.congrex.se/ecc-4.

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: www.escv.org.

15 - 18 SEPTEMBER 2002:

Fifth International Conference of the Hospital Infection Society,

Edinburgh International Conference Centre, Edinburgh, UK. Inf.: Concorde Services, HIS2002, Unit 4b, 50 Speirs Wharf, Port Dundas, Glasgow G4 9TB, Scotland UK. Tel.: +44 (0) 141 331 0123, fax: +44 (0) 141 331 0234, e-mail: his@concorde-uk.com, internet: www.his2002.co.uk.

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: 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.

