

NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR  
**MEDISCHE MICROBIOLOGIE**



Isolatie, identificatie en gevoeligheidsbepaling van *Campylobacter* spp.

•  
Nederlandse medische microbiologie in internationaal perspectief

•  
Atypische presentatie van *Candida*-meningitis bij ex-premature zuigeling

## Colofon

### Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie

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

### NVMM-secretariaat

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

### Hoofdredactie

Dr. C.W. Ang en dr. M. van Rijn  
**Redactie**  
Mw. dr. I.A.J.M. Bakker-Woudenberg,  
dr. A. Fleer, dr. J.G. den Hollander,  
J.A. Kaan, dr. J.S. Kalpoe,  
mw. L.M. Kortbeek, dr. J.F.G.M. Meis,  
dr. G.J.H.M. Ruijs, mw. dr. A. van 't Veen,  
dr. C. Vink, dr. H.F.L. Wertheim

### Redactiesecretariaat

Mw. M.S. Kapteyn-Brus  
Van Zuiden Communications B.V.  
Postbus 2122,  
2400 CC Alphen aan den Rijn  
Tel. (0172) 47 61 91  
Fax. (0172) 47 18 82  
E-mail: ntm@zuidencom.nl

### Advertentie-exploitatie

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

### Oplage en frequentie

900 exemplaren, 4x per jaar

### Abonnementen

Gratis voor leden van de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie (NVMM) en leden van de Vereniging voor Infectieziekten (VIZ). Niet-leden NVMM of VIZ in Nederland: € 36,- per jaar  
Buiten Nederland, in Europa: € 42,50 per jaar  
Losse nummers: € 10,20  
Opgave abonnementen:  
Tel. (0172) 47 61 91



**VAN ZUIDEN**  
COMMUNICATIONS B.V.

© 2009, Van Zuiden Communications B.V.

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

### Algemene voorwaarden

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

ISSN 0929-0176

# Inhoud

## Van de redactie

Summer in the city 4

## Groeten uit Vietnam

Filmpje! 5

*H.F.L. Wertheim*

## Artikelen

Methoden voor isolatie, identificatie en gevoeligheidsbepaling van *Campylobacter* spp. 6

*M.T. van der Beek, W. van Pelt, L. Heres, K. Veldman, J.A. Wagenaar, W.F. Jacobs-Reitsma, D.J. Mevius, E.J. Kuijper*

De Nederlandse medische microbiologie in internationaal perspectief 13

*A.C.M. Kroes*

## Casuïstiek

Een atypische presentatie van *Candida*-meningitis bij een ex-premature zuigeling 17

*M.P. de Hosson, B.A. Semmekrot, A. Verrips, G.P.J.M. Gerrits, J.F.G.M. Meis*

## Ingezonden

Problemen met de Chlamydia Handilab-C-test en andere *point-of-care*-testen 21

*B.M.W. Diederens, D. Veenendaal, E.P.F. IJzerman, E.E.J. Ligtvoet*

## Rubrieken

CBG 22

Samenvatting proefschriften 23, 25

Promoties 26

Personalia 27

Agenda 28

Index zestiende jaargang 29

Auteursrichtlijnen 30

Foto omslag: ©Loes van Damme, Roel Verkooijen, afdeling Medische Microbiologie & Infectieziekten, Erasmus MC, Rotterdam

Van links naar rechts:

1<sup>e</sup> kolom: *Aspergillus fumigatus* (respectievelijk 1, 14, 100 x vergroot)

2<sup>e</sup> kolom: *Aspergillus terreus* (idem)

3<sup>e</sup> kolom: *Aspergillus flavus* (idem)

4<sup>e</sup> kolom: *Aspergillus niger* (idem)

# Summer in the city

Ieder jaar schrijf ik u in ons zomernummer hoe stadsgekluiden, gedragen door de hitte van de stad, zich loom door het raam in mijn kamer naar binnen laten glijden. Dit jaar lijkt echter alles anders. Niet alleen omdat het schoolgebouw aan de overkant van de straat wordt gesloopt, zodat zich nu woeste geluiden van betonverpulverende grijpkranen naar binnen dringen, gedragen door smerig asbeststof, maar ook omdat ons blad dit jaar zichzelf niet is.

Knarsetandend wordt het zoveelste blok beton aan de overkant vermorzeld. Mijn vertrouwde uitzicht zal spoedig vervangen zijn door een kantoorkolos. Niets is voor eeuwig, een adagium dat in deze tijd meer van toepassing lijkt dan voorheen. Zo zal het u zijn opgevallen dat het Congresnummer van het *NTMM* dit jaar anders was dan u gewend was, en dat het blad dat u nu in uw handen heeft, pas nummer 1 draagt. Bestuur en hoofdredactie hebben het afgelopen halfjaar gezocht naar mogelijkheden om ons blad in deze tijden van crisis nog kosteneffectiever uit te geven. Om uiteindelijk tot de conclusie te komen dat we zo slecht nog niet zitten bij Van Zuiden Communications, onze huidige uitgever. Deze exercitie heeft er jammer genoeg wel toe geleid dat 2009 geen normale jaargang is geworden. Desalniettemin (heerlijk woord) kunnen we nu voort in de overtuiging dat we destijds een terechte keuze hebben gemaakt. We gaan de komende jaren voort met de vernieuwing van ons *NTMM*. Natuurlijk, misschien niet meer dan een 'clubblaadje', maar dan wel het blad van onze club. Daar hoort u ook bij, dus schroom niet ons blad te vullen met kopij....

Ik snap het, ben zelf ook een waardeloze schrijver. Terwijl ik dit schrijf, kijk ik schichtig naar het klokje, rechtsonder op mijn taakbalk... Zo dadelijk moet het blad naar de drukker en ik moet nog mijn stukje schrijven. Maar als ik het kan, kunt u het ook: schrijven. Natuurlijk zijn wij allen in feite miskend en zouden zelfs onze boodschappenlijstjes in *The New England Journal of Medicine* gepubliceerd moeten worden. Maar zo lang de rest van de wereld dat nog niet inziet, zou u best eens een manuscript naar uw *NTMM* kunnen sturen. Want dat de gemiddelde lezer van ons blad een betere schrijver is dan uw hoofdredacteur, blijkt wel uit de stroom aan publicaties die vanuit onze beroepsgroep in de 'grote' bladen verschijnen. Collega Kroes heeft er een zeer lezenswaardig stuk over geschreven. Gemeten volgens

de h-index (zeg maar de G-spot van de serieuze wetenschapper), komt de Nederlandse medische microbiologie internationaal op een gedeelde derde plaats. Die plaats delen we met onze oosterburen, dat dan weer wel. In een eerder nummer schreef Henri Verbrugh al eens over de h-index, ik weet nog dat ik toen de mijne heb uitgerekend. Ik ben de waarde kwijt, maar ik was wel snel klaar met rekenen. Dat weet ik nog wel.

Van der Beek et al. inventariseerden de in ons land gebruikte methoden voor isolatie, identificatie en gevoeligheidsbepaling van *Campylobacter* spp. en gaan in op de gevonden discrepanties tussen de verschillende laboratoria en gebruikte bepalingen. Uit Nijmegen komt het verhaal van een ex-premature zuigeling bij wie een gestoorde motorische ontwikkeling de eerste uiting was van een *Candida*-meningitis. Bram Diederer laat zien hoe point-of-care-testen, soms ook echt een punt van zorg kunnen zijn. Daarnaast nog twee samenvattingen van proefschriften. Me dunkt, voldoende leesvoer om de komende lome dagen mee door te komen. De redactie wenst u daar een fijne vakantie bij toe...

Michiel van Rijn,  
hoofdredacteur

# Filmpje!

Heiman F.L. Wertheim

Terwijl ik bezig was een manuscript te schrijven over honds-dolheid, kwam ik een aantal verontrustende video's tegen op internet, met name op *YouTube*. Er was bijvoorbeeld een filmpje van een kind met rabiës, met in de video de tekst 'CrazyShit.com' en 'This Shit's For You!' Deze video was meer dan 100.000 keer bekeken voordat het werd verwijderd door *YouTube*. Onder de video's kan men commentaren plaatsen. Bij de video in kwestie waren opmerkingen geplaatst zoals: "funniest shit I seen all week"; "he's screaming at a glass of water. IT'S FUNNY!!!"; "fuck the family and fuck u! u tree huggin hippie. don't click on the video if u think its wrong". Dit soort opmerkingen getuigt niet van respect voor de patiënt die voor zijn leven vecht en evenmin voor zijn/haar familie die mogelijk een dierbare verliest. Ook wordt geen enkele moeite gedaan de anonimiteit van deze patiënt te bewaren.

In de 18<sup>e</sup> eeuw was het in Londen erg populair om voor een 'penny' naar het *Bethlem Asylum* te gaan om daar naar de 'gekken' te kijken. De pottenkijkers konden smakelijk lachen om het schouwspel, net zoals de kijkers nu op *YouTube*. Dit vermaak is uiteindelijk in 1770 gestopt omdat het 'tended to disturb the tranquility of the patients by making sport and diversion of the miserable inhabitants'. Kennelijk zijn er nu vergelijkbare vormen van vermaak online te vinden, zoals het bovenstaande voorbeeld duidelijk laat zien, en nog wel gratis. Het online plaatsen en bekijken van filmpjes neemt een grote vlucht en is *big business*, met *YouTube* als de meest populaire site. Er worden ongeveer 100 miljoen video's per dag gedownload, die kunnen worden bekeken zonder enige beperking, en dit gebeurt alleen al in Amerika op een fenomenale schaal van miljoenen internetgebruikers. *YouTube* en andere sites eisen geen enkel bewijs dat getoonde mensen hebben ingestemd met deze opname en het plaatsen ervan op internet. Men kan echter wel op *YouTube* zorgen uiten over een bepaalde video en een klacht indienen, waarna de websitebeheerders uiteindelijk beslissen het filmpje wel of niet te verwijderen. Een alternatieve methode is een filmpje te voorzien van een vlag als 'ongeschikt' of 'ongepast', waarop de beheerders zullen beslissen of de video inderdaad dient te worden verwijderd. Het kwaad is echter al geschied en een video is dan al duizenden malen bekeken en gedownload. De beelden gaan uiteindelijk een eigen leven leiden en zijn soms later weer beschikbaar op een andere site.

Aan de filmmaker van de rabiëspatiënt is gevraagd of toestemming door de familie was verleend. Zijn antwoord was "when these videos were taken, the parents were informed

that they would be viewed world wide for education and awareness purposes". Dit betekent dat geen geschreven maar slechts mondelinge toestemming was verkregen op een moment dat daarvoor niet echt geschikt was. Deze standaard van 'veronderstelde toestemming' is een belangrijke stap terug van de afspraken die binnen de medische gemeenschap zijn vastgesteld. Zonder duidelijke en geïnformeerde schriftelijke toestemming van de patiënt of zijn/haar familie is het plaatsen van dit soort filmmateriaal een duidelijke schending van ieders recht op privacy en zelfbeschikking, zoals beschreven in de *Declaratie van Helsinki*.

Wat nu? Kennelijk moeten de mensenrechten worden aangepast aan deze *cyber age*. Een Mori-enquête, op verzoek van de Britse *Pers Klachten Commissie*, liet zien dat 42 procent van de 16- tot 24-jarigen die *social networking sites* gebruiken, aangeven dat zij iemand kennen die ernstig is beschaamd door materiaal dat online is geplaatst zonder zijn/haar toestemming. Negentig procent gaf aan dat betere regulering nodig is om de privacy te beschermen tegen misbruik. Naar mijn mening zou actie moeten worden ondernomen om mensen (c.q. patiënten) te beschermen tegen het plaatsen van privébeeldmateriaal op internet zonder dat zij expliciet toestemming hebben gegeven. Alleen na een goede toestemmingsprocedure, mondeling en schriftelijk, kan iemand pas een video plaatsen. Verder dient aan de persoon in kwestie duidelijk te worden gemaakt wat het doel is van het plaatsen van zijn/haar filmpje op internet, wat de doelgroep is en of het filmpje vrij te zien is voor iedereen die dat maar wil. Er is een wereld van verschil tussen artsen die op een besloten site een filmpje kunnen bezichtigen en een groep tieners die alles gratis kunnen bekijken, op elk moment van de dag, in verschillende vormen van mentaal functioneren. *Video sharing sites* dienen te worden verplicht de indieners van gevoelig beeldmateriaal te vragen naar bewijs dat toestemming door de patiënt is verleend. Filmpjes van patiënten op internet zonder toestemming dienen te worden verwijderd, desnoods via juridische stappen.

Dr. H.F.L. Wertheim, arts-microbioloog, Oxford University Clinical Research Unit, National Institute of Infectious and Tropical Diseases, Bach Mai Hospital, 78 Giai Phong Street, Hanoi, Vietnam, e-mail: hwertheim@oucru.org.

# Methoden voor isolatie, identificatie en gevoeligheidsbepaling van *Campylobacter* spp.

M.T. van der Beek, W. van Pelt, L. Heres, K. Veldman, J.A. Wagenaar, W.F. Jacobs-Reitsma, D.J. Mevius, E.J. Kuijper

## Samenvatting

In de afgelopen jaren werden vanuit landelijke medisch microbiologische laboratoria wisselende resistentiecijfers van *Campylobacter jejuni* en *Campylobacter coli* voor erytromycine gerapporteerd. Om de oorzaak hiervan te onderzoeken werden aanvullende onderzoeken verricht. Allereerst werden de resultaten van de fenotypische identificatie van deelnemende laboratoria vergeleken met moleculaire identificatie. Van de landelijke isolaten bleek 92 procent correct fenotypisch geïdentificeerd. Vervolgens werd de gevoeligheidsbepaling herhaald met een microbouillonverduunningsmethode. Daaruit bleek dat er sprake was van een discrepantie wat betreft erytromycinegevoeligheid bij 9 procent en wat betreft ciprofloxacinegevoeligheid bij 7 procent van de isolaten. In een enquête werd gevraagd naar de methoden voor isolatie, identificatie en gevoeligheidsbepaling van campylobacters. De meeste laboratoria gebruikten adequate selectieve kweekmedia voor de isolatie van *C. jejuni* en *C. coli*. De diskdiffusiemethode werd breed toegepast als gevoeligheidsbepaling. Bij gebrek aan interpretatiecriteria varieerden de gebruikte afkapwaarden voor de zonediameters echter sterk. Hierdoor blijft het onduidelijk of de resistentiecijfers van erytromycine in campylobacters wel met de juiste methoden en afkapwaarden zijn vastgesteld. In afwachting van validatie van de diskdiffusiemethode en de te gebruiken interpretatiecriteria, is het gebruik van minimum inhiberende concentratie- (MIC-) bepalingen en cut-offwaarden het beste alternatief.

**Trefwoorden:** *Campylobacter* spp., identificatie, gevoeligheidsbepaling, erytromycine

## Inleiding

*Campylobacter* spp. zijn de meest voorkomende verwekkers van bacteriële enteritis. De meest voorkomende humane pathogenen zijn *C. jejuni subsp. jejuni* en *C. coli*. Overdracht van resistente *Campylobacter* spp. via voedingsmiddelen van dierlijke oorsprong naar de mens kan, naast het gebruik van antibiotica in de humane sector, bijdragen aan

het voorkomen van infecties met resistente *Campylobacter* spp.<sup>1</sup> Tussen 2002 en 2004 werden uit landelijke microbiologische laboratoria gegevens over resistentie van campylobacters verkregen in het kader van een patiëntcontroleonderzoek in samenwerking met het RIVM (het zogeheten CaSa-project).<sup>2</sup> In deze jaren werden variabele resistentiecijfers ten aanzien van het aantal erytromycineresistente *Campylobacter* spp. gerapporteerd.<sup>3,4</sup> Naast rapportage over een mogelijke toename van erytromycineresistentie, leek sprake van regionale verschillen in gevoeligheid.<sup>5</sup> Bij nader onderzoek van een deel van de isolaten uit dit onderzoek bleek dat een deel van de als erytromycineresistent gerapporteerde *Campylobacter* spp. niet resistent was.<sup>6</sup> Mogelijk lagen verschillen in de gebruikte methoden voor identificatie en gevoeligheidsbepaling van *Campylobacter*-isolaten ten grondslag aan de regionale verschillen en aan de discrepante resultaten. Om deze hypothese te onderzoeken werden aanvullende onderzoeken verricht. Ten eerste werden de resultaten van de fenotypische identificatie van de deelnemende laboratoria vergeleken met moleculaire identificatie. Daarnaast werd van een aantal isolaten de gevoeligheidsbepaling herhaald met een microbouillonverduunningsmethode. Ten slotte werd een enquête gehouden bij de laboratoria die hadden deelgenomen

W. van Pelt, Centrum voor Infectieziektebestrijding, Epidemiologie en Surveillance, RIVM, Bilthoven; L. Heres, divisie Bacteriologie en TSE's, Centraal Veterinair Instituut, Lelystad, afdeling Kwaliteit en Milieu, VION Fresh Meat West, Boxtel; K. Veldman, divisie Bacteriologie en TSE's, Centraal Veterinair Instituut, Lelystad; J.A. Wagenaar, divisie Bacteriologie en TSE's, Centraal Veterinair Instituut, Lelystad, WHO/OIE Collaborating Center for *Campylobacter*; W.F. Jacobs-Reitsma, RIKILT Instituut voor Voedselveiligheid, Wageningen UR; D.J. Mevius departement Infectieziekten en Immunologie, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht; E.J. Kuijper, afdeling Medische Microbiologie, Centrum voor Infectieziekten, LUMC.  
Correspondentieadres: Drs. M.T. van der Beek, afdeling Medische Microbiologie, LUMC, Postzone E4-P, Postbus 9600, 2300 RC Leiden, e-mail: M.T.van\_der\_Beek@lumc.nl

aan het CaSa-onderzoek, waarin werd gevraagd naar de methoden voor isolatie, identificatie en gevoeligheidsbepaling van campylobacters.

## Materiaal en methoden

### Identificatie

Moleculaire identificatie van 2521 van de 3176 isolaten die in 2002-2003 waren verzameld in het kader van het CaSa-project, werd uitgevoerd door de *Animal Sciences Group* in Lelystad door middel van restrictie-fragmentlengte-polymorfismeanalyse (PCR-RFLP) van de 16S rDNA en 23S rDNA-genen.<sup>7,8</sup>

### Gevoeligheid

Gevoeligheidsbepaling door middel van een microbouillonverduunningsmethode voor erytromycine en ciprofloxacine werd uitgevoerd op een aselechte steekproef van 176 isolaten van de deelnemende laboratoria. De bepaling werd uitgevoerd volgens richtlijn M45-A van het *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI).<sup>9</sup> Als breekpunt voor resistentie werd uitgegaan van de CLSI-breekpunten van  $\geq 32$  mg/l voor erytromycine en  $\geq 4$  mg/l voor ciprofloxacine.

### Enquête

Steekproefsgewijs is aan 12 laboratoria die bij het eerdere onderzoek waren betrokken, in oktober 2006 een schriftelijke enquête gestuurd, gebaseerd op de *Foodnet*-enquête van 2005 (*FoodNet Survey of Clinical Laboratory Practices for Campylobacter Isolation and Identification*, 2005). In de enquête zijn vragen gesteld over de gebruikelijke methoden voor isolatie van *Campylobacter* uit ingezonden monsters, de identificatie tot genus- en speciesniveau van de geïsoleerde *Campylobacter* spp., en de methoden voor gevoeligheidsbepalingen.

## Resultaten

### Identificatie

Van alle ingezonden isolaten ( $n=2521$ ) was 92 procent correct fenotypisch geïdentificeerd door de 18 aan het CaSa-project deelnemende laboratoria, vergeleken met moleculaire identificatie als gouden standaard (*tabel 1*). De resultaten van de 12 laboratoria die voor de enquête zijn benaderd, waren vergelijkbaar met deze landelijke resultaten. Van de 1585 *C. jejuni*-isolaten was gemiddeld 96 procent (uiterste per laboratorium 81-100 procent) correct geïdentificeerd en van de 127 *C. coli*-isolaten was gemiddeld 33 procent (uiterste per laboratorium 0-75 procent) correct geïdentificeerd.

### Gevoeligheid

Van 176 opnieuw geteste isolaten was bij 91 procent de gevoeligheid voor erytromycine en bij 93 procent de gevoeligheid voor ciprofloxacine, zoals bepaald met de microbouillonverduunningsmethode, gelijk aan de oorspronkelijk

gerapporteerde gevoeligheid (*tabel 1*). Voor ciprofloxacine was gemiddeld 5 procent (uiterste per laboratorium 0-12 procent) van de isolaten ten onrechte gevoelig gerapporteerd door de deelnemende laboratoria en 2 procent (uiterste per laboratorium 0-9 procent) ten onrechte resistent. Voor erytromycine werden geen isolaten ten onrechte als gevoelig gerapporteerd. Daarentegen was gemiddeld 9 procent (uiterste 0-100 procent) van de isolaten ten onrechte als resistent gerapporteerd.

### Enquête

#### Respons

Door 10 van de 12 aangeschreven laboratoria (83 procent) werd de enquête ingevuld (*tabel 1 en 2*).

#### Kweek

Alle laboratoria gebruikten selectieve media voor de isolatie van campylobacter uit fecesmonsters (*tabel 1*). De meest gebruikte media waren (*modified*) Karmalimedium (bloedvrij, charcoalbevattend, cefoperazon, vancomycine en cycloheximide of amfotericine-B) en (*modified*) CCDA (*charcoal cefoperazone deoxycholate* agar; bloedvrij, charcoalbevattend, *deoxycholate*, cefoperazon en amfotericine-B). Twee laboratoria gebruikten twee verschillende selectieve media en door één laboratorium werd op indicatie de filtratietechniek (in combinatie met een niet-selectief medium) toegepast. Door de helft van de laboratoria werden kweken alleen bij 40-42 °C geïncubeerd. Eveneens de helft van de laboratoria incubeerde kweken maximaal twee dagen.

#### Genusidentificatie

Alle laboratoria gebruikten een grampreparaat voor de initiële identificatie van een verdachte kolonie als *Campylobacter* spp.. Negen van de tien laboratoria testten daarnaast de aanwezigheid van (cytochrom)oxidase. Aanvullende testen werden weinig gedaan (*tabel 1*).

#### Speciesidentificatie

Alle laboratoria voerden een hippuraatattest uit voor de identificatie van een *Campylobacter* als *C. jejuni*. De meerderheid (60 procent) van de laboratoria gebruikte een inoculum van ongeveer 4 *McFarland* en incubeerde 4 uur of langer (90 procent van de laboratoria, *tabel 1*). De meerderheid van de laboratoria (70 procent) gebruikte de indoxyltest als aanvullende identificatiestap. Van de laboratoria onderzocht 60 procent de groei-eigenschappen van een isolaat (temperatuur, selectieve media) en enkele laboratoria deden een katalasetest, API Campy (Biomerieux) of andere aanvullende (biochemische) testen (*tabel 1*). De nalidixinezuurvoeligheid werd soms getest (40 procent), maar twee van de vier laboratoria hielden hierbij geen rekening met verworven resistentie voor ciprofloxacine.

Tabel 1. Isolatie en identificatie

Lab	Enquête	CONCORDANTIE <sup>1</sup>				KWEEK				DIRECT ONDERZOEK		
		AANTAL % CORRECT				Kweekmedium <sup>2</sup>	Filtratie-techniek	T (° C)	Duur (dagen)	Gram	Oxidase	Katalase
C. jejuni	C. coli											
a	Ja	75	99	4	25	Campyloset	Op indicatie	42	2	Ja	Ja	
b	Ja	82	100	8	0	Karmali	Nee	37	1-2	Ja	Ja	
c	Ja	78	99	7	57	Karmali	Nee	37	2	Ja	Ja	Ja
d	Ja	166	100	7	0	CCDA	Nee	42	2	Ja	Ja	
e	Ja	244	98	14	36	Karmali en CCDA	Nee	42 en 37	2-3	Ja	Ja	
f	Ja	149	99	21	19	Anders	Nee	42	2	Ja		
g	Ja	209	87	23	70	Anders	Nee	42	3	Ja	Ja	
h	Ja	57	96	7	43	Karmali en Skirrow	Nee	42 en 37	3	Ja	Ja	Ja
i	Ja	72	100	3	0	Karmali	Nee	40	3	Ja	Ja	Ja
j	Ja	170	94	5	40	Preston	Nee	37	3	Ja	Ja	Ja
k	Nee	72	81	12	75							
l	Nee	211	99	16	31							
AVG <sup>a</sup>	83	96	33									

Anders = onbekend of niet duidelijk; <sup>1</sup> Vergeleken met moleculaire typering; <sup>2</sup> CCDA = *modified charcoal cefoperazone deoxycholate agar*,

<sup>3</sup> Nal = nalidixinezuur gevoeligheid, ceph = cefalotine gevoeligheid; <sup>a</sup> Gemiddelde van voor enquête benaderde laboratoria (n=12)

Tabel 2. Gevoeligheidsbepaling

Lab	Enquête	AANTAL HERTESTE ISOLATIE	CONCORDANTIE <sup>1</sup>								
			CIPROFLOXACINE			ERYTROMYCINE			TETRACYCLINE		
			% VG	% VR	% correct	% VG	% VR	% correct	% VG	% VR	% correct
a	Ja	16	6	0	94	0	0	100	0	0	100
b	Ja	11	9	9	82	0	0	100	0	9	91
c	Ja	14	7	0	93	0	0	100	14	7	70
d	Ja	16	6	6	88	0	0	100	0	0	100
e	Ja	15	7	7	87	0	0	100	0	7	93
f	Ja	15	7	0	93	0	0	100	7	7	87
g	Ja	13	0	0	100	0	0	100	15	0	85
h	Ja	17	12	0	88	0	0	100	6	0	94
i	Ja	15	0	0	100	0	13	87	33	0	67
j	Ja	13	0	0	100	0	100	0	0	0	100
k	Nee	16	0	0	100	0	0	100	0	0	100
l	Nee	15	7	0	93	0	0	100	20	0	80
AVG <sup>a</sup>	83	5	2	93	0	9	91	8	2	90	

Anders = onbekend of niet duidelijk; <sup>1</sup> Vergeleken met bouillondilutie : VG = ten onrechte gevoelig, VR = ten onrechte resistent;

<sup>2</sup> Disk diff = diskdiffusie, bouill dil = bouillondilutie; <sup>3</sup> MHA = mueller-hintonagar, CBA = *columbia blood agar*, ISO = isosensitestagar,

MHB = mueller-hintonbouillon, HB = *horse blood*, SB = *sheep blood*; <sup>4</sup> Zonediameters in mm wanneer diskdiffusie wordt toegepast, MIC's in mg/l bij de andere methoden; <sup>a</sup> Gemiddelde van voor enquête benaderde laboratoria (n=12)

IDENTIFICATIE											
HIPURAATTEST				GROEI-EIGENSCHAPPEN				OVERIGE TESTEN			
Substraat	Inoculum	T (° C)	Duur (uren)	Aeroob	25 ° C	42 ° C	Selectief	Indoxyl	Nal <sup>3</sup>	Ceph <sup>3</sup>	Overig
Tablet	4 McF	37	4	Ja	Ja	Ja	MacConkey	Ja	Ja		H <sub>2</sub> S, nitraat, urease
Tablet	4 McF	37	4					Ja			
Tablet	4 McF	37	4	Ja				Ja			
Oplossing	Öse vol	35	2	Ja		Ja					
Oplossing	Dik	35	24						Ja	Ja	
Oplossing	2 McF	37	4								Api
Oplossing	Dik	35	2	Ja				Ja	Ja		
Tablet	3-5 McF	37	18-24		Ja	Ja	MacConkey	Ja	Ja		
Tablet	4 McF	35	4-24		Ja			Ja			
Tablet	4 McF	37	4					Ja			Beweeglijkheid

METHODE					BREEKPUNTEN <sup>4</sup>					
Methode <sup>2</sup>	Medium <sup>3</sup>	Inoculum	T (° C)	Duur (uren)	S cipro	R cipro	S ery	R ery	S tetra	R tetra
Disk diff	MHA + 5% HB	1 McF	37	24	Anders	Anders	Anders	Anders	Anders	Anders
Disk diff	MHA + 5% SB	1 McF	37	24	≥ 23	≤ 19	≥ 23	≤ 19	≥ 28	≤ 23
Disk diff	Anders	1 McF	37	18-24	≥ 23	≤ 19	≥ 23	≤ 19	≥ 28	≤ 23
Disk diff	MHA + 5% HB	1 McF	42	24	≥ 23	≤ 19	≥ 23	≤ 19	≤ 23	≥ 28
Disk diff	Anders	0,5-1 McF	42	24	≥ 23	≤ 19	≥ 26	≤ 20	≥ 28	≤ 23
Disk diff	ISO + HB + IsoVitalex	1 kolonie in 5 ml	42	24	≥ 16	≤ 20	≥ 16	≤ 23	≥ 13	≤ 17
Disk diff	MHA	0,5 McF	42	24	> 21	< 20	> 15	< 13	> 21	< 19
Disk diff	CBA + 6,5% SB	ose	42	24-48	> 0	0	> 0	0	> 0	0
Bouillon dil	MHB	0,5 McF	40	24	≤ 0,5	≥ 1	≤ 1	≥ 2	≤ 1	≥ 2
E-test	MHA + 5% HB	0,5 McF	37	24-48	≤ 1	≥ 1,5	≤ 1	≥ 1,5	≤ 4	≥ 8



### Antibioticumgevoeligheidsbepalingen

De meeste laboratoria (80 procent) gebruikten de diskdiffusiemethode voor de bepaling van gevoeligheid voor erytromycine en ciprofloxacine (tabel 2). Twee laboratoria gebruikten een andere methode, namelijk de E-test en een bouillonverduunningstest. Bij diskdiffusie werd door drie van de acht laboratoria geïncubeerd bij 37 °C en door vijf laboratoria bij 42 °C. Geen van de laboratoria die de diskdiffusietest bij 37 °C incubeerden, deed dit langer dan 24 uur. Er werden verschillende kritische zonediameters en MIC's gehanteerd (tabel 2).

### Discussie

Het doel van dit onderzoek en van deze enquête was om verschillen in de gebruikte methoden voor de kweek, identificatie en gevoeligheidsbepaling van campylobacters in Nederlandse medisch microbiologische laboratoria in kaart te brengen. Mogelijk lagen verschillen in de gebruikte methoden ten grondslag aan eerder gevonden wisselende resistentiecijfers en regionale verschillen.<sup>3,5</sup> In de Verenigde Staten werd reeds door middel van een enquête aangetoond dat verschillen in methoden tussen laboratoria verschillen in de gerapporteerde incidentie van *Campylobacter*-infecties kunnen verklaren.<sup>10</sup> De betrouwbaarheid van een uitslag is van belang voor de behandeling van een patiënt en om resultaten van verschillende laboratoria onderling en over verschillende jaren te kunnen vergelijken.

### Media

Voor de kweek van *Campylobacter* waren Karmali en CCDA de meest gebruikte selectieve media. In een Nederlands onderzoek werden verschillende kweekmedia voor isolatie van *Campylobacter* uit feces vergeleken.<sup>11</sup> Voor *C. jejuni* en *C. coli* gaven Karmali en CCDA de hoogste opbrengst in dit onderzoek en ze vertoonden de minste groei van contaminanten vergeleken met Skirrow-medium, CampyBAP (*Campylobacter* brucella-agar) en SSM (*semisolid motility*) agar. Een Canadees onderzoek waarin Skirrow, Butzler, Blaser-Wang, Preston, Karmali en CCDA werden vergeleken, toonde eveneens aan dat CCDA en Karmali de beste sensitiviteit en selectiviteit vertonen.<sup>12</sup> De filtratietechniek werd door slechts één laboratorium toegepast. Hierbij wordt doorgaans gebruikgemaakt van een niet-selectief kweekmedium, zodat soorten kunnen worden geïsoleerd die door antibiotica in selectieve platen worden geremd, zoals *C. upsaliensis* en *Arcobacter* spp.<sup>13</sup> Vergeleken met een selectief medium leidde dit tot een verhoogde opbrengst in verschillende onderzoeken.<sup>14-17</sup> Of het zeldzaam voorkomen van deze species bij gastro-enteritis het routinematig inzetten van deze techniek rechtvaardigt, valt te bezien. Met name bij immuungecompromitteerden is echter herkenning en behandeling van alle pathogene *Campylobacter* spp. van belang.<sup>18</sup>

### Duur

Door de helft van de laboratoria werden kweken slechts één tot twee dagen geïncubeerd. In het onderzoek van Endtz in 1991 werd aangetoond dat een verlenging van de kweekduur naar 72 uur tot een verhoogde opbrengst leidde, ongeacht het gebruikte kweekmedium.<sup>11</sup> Door eveneens ongeveer de helft van de laboratoria worden kweken bij 40-42 °C geïncubeerd en kunnen dus alleen de thermofiele soorten worden geïsoleerd. Om ook de niet-thermofiele *Campylobacter* soorten en de niet bij 42 °C groeiende *C. jejuni* subsp. *doylei* te isoleren, wordt aangeraden tevens bij 37 °C te incuberen. Ook hierbij geldt dat de kweek op non-thermofiele soorten met name bij immuungecompromitteerde patiënten erg belangrijk is.

### Identificatie

Microbiologische handboeken beschouwen oxidase-positieve gramnegatieve gebogen of S-vormige staven die op selectieve media bij 42 °C groeien als *Campylobacter* spp.<sup>19-20</sup> Dit wordt door bijna alle laboratoria aangehouden. Onjuiste identificatie van *C. jejuni* kwam voor bij 4 procent van alle *C. jejuni*-isolaten in het CaSa-onderzoek. Van deze isolaten was 88 procent als *C. coli* geïdentificeerd en dit kan berusten op een fout-negatieve hippuraat-test. Fout-negatieve testen kunnen berusten op een te laag inoculum, maar de meeste laboratoria gebruiken een dik inoculum. Daadwerkelijk hippuraat-negatieve *C. jejuni* zijn zeldzaam.<sup>21</sup> Andersom was het merendeel van de onjuist geïdentificeerde *C. coli*-isolaten, bij moleculaire typering *C. jejuni*. Fout-positieve hippuraat-testen kunnen voorkomen wanneer te lang na toevoeging van ninhydrine reagens het testresultaat wordt afgelezen. Wanneer wordt gekeken naar het aantal fout-positieve hippuraat-testen op basis van moleculaire typering als *C. coli* en fenotypische identificatie als *C. jejuni*, is het percentage fout-positieve testen 4,7 procent. Voor de identificatie van een hippuraat-negatieve *Campylobacter* gebruiken laboratoria verschillende methoden. Van belang is op te merken dat nalidixinezuurgevoeligheid als identificatiestap alleen kan worden toegepast als het isolaat gevoelig is voor ciprofloxacine. Door kruisresistentie sluit nalidixinezuurresistentie niet uit dat een isolaat een *C. jejuni* of *C. coli* is wanneer sprake is van ciprofloxacineresistentie. Het is aan te raden bij ciprofloxacineresistentie de indoxyltest toe te passen. Doordat in het CaSa-onderzoek sprake was van kleine aantallen isolaten die tot andere species behoorden en doordat de gebruikte aanvullende identificatiemethoden zo verschilden tussen de laboratoria, kon een verband tussen de juistheid van de identificatie van deze isolaten en de gebruikte methoden niet worden bestudeerd.

### Gevoeligheidsbepaling

Het hertesten met behulp van bouillondilutie toonde aan dat zowel foutresistente als foutgevoelige uitslagen

voor erytromycine en ciprofloxacine niet zeldzaam zijn. Diskdiffusie was de meest gebruikte methode voor de gevoeligheidsbepaling bij campylobacters. De CLSI adviseert de microbouillonverduunning als methode om gevoeligheid te bepalen, waarbij diskdiffusie als voorafgaande screeningsmethode kan worden gebruikt.<sup>9</sup> Met name voor ciprofloxacine en erytromycine is de diskdiffusiemethode uitgebreid onderzocht. In verschillende onderzoeken werd diskdiffusie vergeleken met agarverduunning en werden wisselende correlaties gevonden tussen beide methoden.<sup>22-24</sup> De CLSI adviseert bovendien om 48 uur te incuberen indien bij 37 °C wordt geïncubeerd en 24 uur bij 42 °C.<sup>9</sup> Door de participerende laboratoria die bij 37 °C incubeerden werd echter slechts 24 uur geïncubeerd. Dit kan leiden tot foutgevoelige uitslagen doordat er nog onvoldoende groei is na 24 uur. E-test werd slechts door één laboratorium gebruikt. Hiervan is een goede concordantie met bouillondilutie vastgesteld in meerdere onderzoeken.<sup>6,25</sup>

Er werden uiteenlopende kritische zonediameters gehanteerd door de verschillende laboratoria, hetgeen de discrepanties bij de gevoeligheidsbepalingen kan verklaren. De reden is dat er voor diskdiffusie voor *Campylobacter* spp. geen interpretatiecriteria zijn vastgesteld. De bestaande MIC-breekpunten voor *Campylobacter* spp., zoals die van de CLSI<sup>9</sup> en van de *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST), zijn voornamelijk gebaseerd op MIC-distributies van wildtypepopulaties (tabel 3). Kritische remzonediameters voor *Campylobacter* spp. worden niet gegeven door de CLSI en de EUCAST. Onder andere de *Société Française de Microbiologie* (www.sfm.asso.fr) en de *British Society for Antimicrobial Chemotherapy* (www.bsac.org.uk) publiceren wel (van elkaar verschillende) kritische remzonediameters voor *Campylobacter* spp.. Zowel de afwijkende groei-karakteristieken als de microaerobe kweekcondities maken bovendien het gebruik van kritische zonediameters van niet-microaerofiele, snelgroeiende bacteriën voor de interpretatie van zonediameters van campylobacter onbetrouwbaar. Door het ontbreken van uniforme methoden en interpretatiecriteria is de betrouwbaarheid van diskdiffusie niet goed vast te stellen. De opvallende

discrepantie die werd gevonden bij hertesten van een selectie erytromycineresistente isolaten uit verschillende laboratoria van het CaSa-onderzoek,<sup>6</sup> vormde de aanleiding voor dit onderzoek. Nu werden slechts bij twee laboratoria discrepanties gevonden wat betreft erytromycineresistentie en deze laboratoria gebruikten MIC-bepalingen en geen diskdiffusie. Mogelijk spelen de toegepaste kritische MIC's en de incubatieduur een rol bij de discrepantie. Voor ciprofloxacine werd evenmin een duidelijke relatie gevonden tussen de mate van concordantie bij hertesten en de gebruikte methode voor de gevoeligheidsbepaling.

### Conclusie

Samenvattend gebruikten de deelnemende laboratoria adequate selectieve kweekmedia voor de isolatie van *C. jejuni* en *C. coli*. Van belang is om bij geselecteerde patiënten niet-selectieve kweekmedia en niet-thermofiele kweekomstandigheden toe te passen voor de kweek van *non-jejuni-/non-coli*-soorten. Voor de identificatie van *C. jejuni* worden uniforme methoden aangehouden en het aantal fouten lijkt beperkt. De diskdiffusiemethode wordt breed toegepast als gevoeligheidsbepaling, hoewel MIC-bepalingen worden aanbevolen, en de gebruikte afkapwaarden voor de zonediameters variëren sterk. Zo blijft het onduidelijk of de gerapporteerde toename van erytromycineresistente campylobacters en de regionale verschillen wel met de juiste methode en afkapwaarde zijn vastgesteld.<sup>3,5</sup> Zonder verdere validatie van de diskdiffusiemethode en de te gebruiken interpretatiecriteria zal dit een bron van verschillen tussen laboratoria blijven. Bij het ontbreken hiervan is het gebruik van MIC-bepalingen met bouillondilutie of E-testmethode en op MIC's gebaseerde cut-offwaarden het beste alternatief.

### Summary

In the past few years varying results regarding erythromycin resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* have been reported by Dutch medical microbiology laboratories. This study was undertaken to investigate the possible causes of this variation. Results from phenotypic identification by local laboratories were compared to results from molecular identification and 92 percent of all

Tabel 3. Breekpunten

		CIPROFLOXACINE		ERYTROMYCINE	
		s	r	s	r
Clsi	Klinisch/epidemiologisch	≤ 1 mg/l	≥ 4 mg/l	≤ 8 mg/l	≥ 32 mg/l
Eucast	Klinisch	≤ 0,5 mg/l	> 1 mg/l	≤ 4 mg/l*	> 4 mg/l*
	Epidemiologisch	≤ 1 mg/l		≤ 4 mg/l**	

\* Geen klinische breekpunten voor *C. coli* bekend ; \*\* Apart breekpunt voor *C. coli*: epidemiologisch S ≤ 16 mg/l; CLSI: *Clinical and Laboratory Standards Institute* | EUCAST: *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

isolates was shown to be correctly identified phenotypically. Results from susceptibility tests by local laboratories were compared to results from broth dilution testing. Discrepancies in susceptibility results were found in 9 percent of the isolates for erythromycin and in 7 percent for ciprofloxacin. A questionnaire was used to collect data on methods used locally for identification and susceptibility testing of *Campylobacter* spp.. Most laboratories used adequate selective media for isolation of *C. jejuni* and *C. coli* from stool specimens. Disk diffusion was applied most frequently for susceptibility testing and critical zone diameters varied widely, because of lack of interpretation criteria. Therefore, it remains unclear whether the reports on erythromycin resistance of campylobacters have been established using adequate methods. Awaiting validated methods and interpretative criteria for disk diffusion, the use of MIC-based methods and cut-off values remains the best alternative.

### Dankwoord

Dit onderzoek was mogelijk dankzij de deelname van de benaderde medisch microbiologische laboratoria.

### Literatuur

- Endtz HP, Ruijs GJ, van Klingeren B, et al. Quinolone resistance in campylobacter isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. *J Antimicrob Chemother.* 1991;27(2):199-208.
- Doorduyn Y, van den Brandhof WE, van Duynhoven YTHP, et al. Risk factors for endemic *Campylobacter jejuni* infections in the Netherlands: a case control study. *Proceedings 5th World Congress Foodborne Infections and Intoxications, volume III, S-Co3.* Berlin, Germany 2004.
- Van Pelt W, Wannet WJB, van der Giessen AW, et al. Trends in gastroenteritis in The Netherlands, 1996-2003. *Infectieziekten Bulletin.* 2004;15(09):335-41.
- Van Pelt W, Wannet WJB, van der Giessen AW, et al. Trends in gastroenteritis 1996-2004. *Infectieziekten Bulletin.* 2005;7(16):250-6.
- Van Hees BC, Veldman-Ariesen MJ, de Jongh BM, et al. Regional and seasonal differences in incidence and antibiotic resistance of *Campylobacter* from a nationwide surveillance study in The Netherlands: an overview of 2000-2004. *Clin Microbiol Infect.* 2007;13(3):305-10.
- Van der Beek MT, Claas EC, Mevius DJ, et al. Inaccuracy of routine susceptibility tests for detection of erythromycin resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Clin Microbiol Infect.* 2009;DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.02755.x.
- Fermer C, Engvall EO. Specific PCR identification and differentiation of the thermophilic campylobacters, *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, and *C. upsaliensis*. *J Clin Microbiol.* 1999;37(10):3370-3.
- Marshall SM, Melito PL, Woodward DL, et al. Rapid identification of *Campylobacter*, *Arcobacter*, and *Helicobacter* isolates by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of the 16S rRNA gene. *J Clin Microbiol.* 1999;37(12):4158-60.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. *Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; Approved Guideline, CLSI document M45-A.* ISBN 1-56238-607-7. 2006.
- Hurd S, Shin S, Cronquist A, et al. Clinical laboratory practices for the isolation and identification of *Campylobacter* in FoodNet sites: Do differences explain variation in incidence rates? *The International Conference on Emerging Infectious Diseases.* 2006.
- Endtz HP, Ruijs GJ, Zwinderman AH, et al. Comparison of six media, including a semisolid agar, for the isolation of various *Campylobacter* species from stool specimens. *J Clin Microbiol.* 1991;29(5):1007-10.
- Gun-Munro J, Rennie RP, Thornley JH, et al. Laboratory and clinical evaluation of isolation media for *Campylobacter jejuni*. *J Clin Microbiol.* 1987;25(12):2274-7.
- Goossens H, Vlaes L, De Boeck M, et al. Is 'Campylobacter upsaliensis' an unrecognised cause of human diarrhoea? *Lancet.* 1990;335(8689):584-6.
- Albert MJ, Tee W, Leach A, et al. Comparison of a blood-free medium and a filtration technique for the isolation of *Campylobacter* spp. from diarrhoeal stools of hospitalised patients in central Australia. *J Med Microbiol.* 1992;37(3):176-9.
- Goossens H, Butzler JP. Isolation of *Campylobacter upsaliensis* from stool specimens. *J Clin Microbiol.* 1989;27(9):2143-4.
- Lopez L, Castillo FJ, Clavel A, et al. Use of a selective medium and a membrane filter method for isolation of *Campylobacter* species from Spanish paediatric patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1998;17(7):489-92.
- Piersimoni C, Bornigia S, Curzi L, et al. Comparison of two selective media and a membrane filter technique for isolation of *Campylobacter* species from diarrhoeal stools. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1995;14(6):539-42.
- Snijders F, Kuijper EJ, De Wever B, et al. Prevalence of *Campylobacter*-associated diarrhea among patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis.* 1997;24(6):1107-13.
- Winn W, Allen S, Janda W, et al. *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology.* 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
- Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, et al. *Manual of clinical microbiology.* 9th ed. American Society for Microbiology (Blackwell Publishing); 2007.
- Totten PA, Patton CM, Tenover FC, et al. Prevalence and characterization of hippurate-negative *Campylobacter jejuni* in King County, Washington. *J Clin Microbiol.* 1987;25(9):1747-52.
- Gaudreau C, Gilbert H. Comparison of disc diffusion and agar dilution methods for antibiotic susceptibility testing of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* and *Campylobacter coli*. *J Antimicrob Chemother.* 1997;39(6):707-12.
- Luangtongkum T, Morishita TY, El-Tayeb AB, et al. Comparison of antimicrobial susceptibility testing of *Campylobacter* spp. by the agar dilution and the agar disk diffusion methods. *J Clin Microbiol.* 2007;45(2):590-4.
- Fritsche TR, McDermott PF, Shryock TR, et al. Agar dilution and disk diffusion susceptibility testing of *Campylobacter* spp. *J Clin Microbiol.* 2007;45(8):2758-9.
- Luber P, Bartelt E, Genschow E, et al. Comparison of broth microdilution, E Test, and agar dilution methods for antibiotic susceptibility testing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J Clin Microbiol.* 2003;41(3):1062-8.

# De Nederlandse medische microbiologie in internationaal perspectief

A.C.M. Kroes

## Inleiding

Zoals tijdens de Olympische Spelen dagelijks een rangorde wordt bijgehouden van de prestaties van de nationale sporters, is het ook mogelijk om voor de vaderlandse wetenschap na te gaan hoe die zich verhoudt met andere landen. Het vergelijken en maken van rangorden is een populaire activiteit en kan van waarde zijn: ter motivatie als het goed gaat of anders als sturing voor beleid. Wetenschappelijke productiviteit leent zich daar ook wel voor, want het uitdragen daarvan, in de vorm van publicaties, is goed te meten. In de beschouwing hieronder gaat de auteur in op de ranking en impact van Nederlandse publicaties op het gebied van de medische microbiologie en plaatst hij deze in internationaal perspectief.

**Trefwoorden:** h-index, ranking

## H-index

Wetenschappelijke productiviteit is te meten in omvang, het aantal publicaties, maar ook in de mate waarin die publicaties worden gebruikt in ander werk, de citaties. Een aardige combinatie van die twee aspecten is de inmiddels bekende h-index (of Hirsch-index), waarin de publicaties van een bepaalde herkomst (persoon, instituut of land) eerst aflopend in een rangorde worden geplaatst naar het aantal citaties. Vervolgens wordt geteld bij welk rangnummer een publicatie evenveel citaties heeft als de numerieke waarde van dat rangnummer.<sup>1,2</sup> Dat is een simpele maar verrassend aardige benadering want om dat nummer (de h-index) hoog te laten uitvallen moet je zowel veel publicaties hebben als ook veel geciteerde publicaties. Zo is het mogelijk om individuele wetenschappers te vergelijken, liefst binnen eenzelfde vakgebied, omdat werkwijzen ten aanzien van publiceren en citeren vaak verschillen tussen vakgebieden (ook bijvoorbeeld binnen de geneeskunde in aanzienlijke mate). Daarom zijn vakgebieden onderling niet zo gemakkelijk te vergelijken,<sup>3</sup> zoals medische microbiologie ten opzichte van KNO (wat ook niet zo zinvol lijkt). Wat wel uitstekend kan, is het vergelijken van eenzelfde vakgebied in verschillende landen. Binnen een bepaald vakgebied zal men immers

wel op eenzelfde manier werken, en zo kan men zien wat er in een vakgebied gebeurt in het ene land, ten opzichte van het andere.

Een databank waar de benodigde informatie is te vinden, is de SJR (*SCImago Journal and Country Rank*).<sup>4</sup> Deze is overigens gebaseerd op de Scopus databank van Elsevier, waarin ongeveer 16.000 *peer reviewed* tijdschriften uit de hele wetenschap worden bijgehouden.<sup>5</sup> Hierbij is een aantal relevante tabellen afgebeeld, afkomstig uit die SJR-databank. Voor alle wetenschappen bij elkaar (*tabel 1*) komt Nederland qua h-index op de negende plaats (bij de output in aantal publicaties op de 13<sup>e</sup>). Dat is al niet slecht, gelet op alle grotere landen die daarna nog volgen. Het gaat hier immers steeds om de totale output per land, zonder correctie voor de grootte van het land (dat gebeurt trouwens ook niet op de Olympische Spelen). Voor de medische wetenschap in het algemeen (*tabel 2*) staat Nederland qua h-index op de zevende plaats (qua aantal publicaties op de tiende) maar voor medische microbiologie als vakgebied (*tabel 3*) komt Nederland qua h-index op een gedeelte derde/vierde plaats (met het aantal publicaties op de 12<sup>e</sup> plaats).

## Derde plaats

De derde plaats wereldwijd, gemeten in h-index, is verbluffend hoog. De Verenigde Staten (bij alle wetenschappen bovenaan overigens) en het Verenigd Koninkrijk gaan nog voor; Frankrijk en Duitsland zijn ongeveer even belangrijk; alle overige landen komen daarna. Dit gegeven is dus géén gemiddelde, per onderzoeker bijvoorbeeld: het betreft de gecombineerde totale output van een land als geheel, terwijl die landen nogal verschillen in grootte. Gerelateerd aan het inwoneraantal (Duitsland heeft bijvoorbeeld zes keer zo veel inwoners als Nederland)

Correspondentieadres: Prof. dr. A.C.M. Kroes, afdeling Medische Microbiologie, Centrum voor Infectieziekten, Leids Universitair Medisch Centrum, Postbus 9600, 2300 RC Leiden, e-mail: kroes@lumc.nl.

Tabel 1. Ranking gebaseerd op publicaties uit 1996-2007, volgens de h-index. Het betreft alle wetenschappen en alle categorieën onderwerpen. De eerste 20 landen van in totaal 224 vergeleken landen worden genoemd.<sup>4</sup>

	LAND	PUBLICATIES	CITEERBARE PUBLICATIES	CITATIES	ZELF-CITATIES	CITATIES PER PUBLICATIE	H-INDEX
1	Verenigde Staten	3.885.065	3.652.547	55.078.925	26.887.171	14,51	891
2	Verenigd Koninkrijk	1.105.308	1.007.750	12.819.856	3.315.114	12,39	538
3	Duitsland	1.013.151	963.401	10.817.780	3.064.671	11,30	469
4	Frankrijk	732.180	695.274	7.491.135	1.855.193	10,78	432
5	Japan	1.103.915	1.081.652	9.104.613	3.003.301	8,52	422
6	Canada	550.920	524.539	6.180.777	1.302.773	12,44	417
7	Italië	534.598	509.208	5.018.387	1.250.266	10,28	376
8	Zwitserland	218.831	207.770	3.122.283	480.655	15,72	365
9	Nederland	306.962	291.250	3.955.859	735.740	14,11	362
10	Zweden	224.187	215.491	2.870.070	539.440	13,55	323
11	Australië	346.740	325.599	3.415.148	772.972	11,19	315
12	Spanje	388.908	367.174	3.126.547	852.506	9,14	284
13	België	165.330	157.589	1.799.084	303.047	11,99	277
14	Israël	137.447	131.702	1.522.055	255.082	11,78	273
15	Denemarken	115.462	110.364	1.540.066	256.255	14,34	256
16	Oostenrijk	114.352	108.346	1.166.968	189.608	11,36	240
17	Finland	109.740	106.887	1.284.956	242.028	12,75	235
18	Russische Federatie	369.018	366.673	1.352.932	444.618	3,69	206
19	Noorwegen	82.489	79.146	848.672	154.873	11,45	204
20	China	969.985	964.718	2.379.100	1.178.534	3,68	190

Tabel 2. Ranking en h-index voor de medische wetenschap en alle categorieën onderwerpen.<sup>4</sup>

	LAND	PUBLICATIES	CITEERBARE PUBLICATIES	CITATIES	ZELF-CITATIES	CITATIES PER PUBLICATIE	H-INDEX
1	Verenigde Staten	1.134.945	1.003.790	16.304.698	8.220.878	15,20	624
2	Verenigd Koninkrijk	337.578	274.308	3.911.983	989.257	12,26	382
3	Canada	141.704	126.181	1.912.143	349.788	14,98	325
4	Duitsland	283.203	251.481	2.660.533	727.627	9,84	317
5	Frankrijk	192.200	168.225	1.866.706	405.645	9,90	312
6	Italië	164.390	148.165	1.580.282	330.887	10,16	278
7	Nederland	97.172	87.809	1.350.480	241.992	15,20	274
8	Japan	259.830	247.646	2.071.877	601.678	7,91	242
9	Zwitserland	62.382	55.588	778.290	103.139	13,54	235
10	Zweden	63.900	59.420	928.570	157.890	15,15	232
11	Australië	103.166	89.073	1.073.527	216.763	11,73	231
12	België	49.641	44.766	577.521	77.584	12,45	212
13	Spanje	115.391	100.413	818.527	194.679	7,68	207
14	Finland	29.190	27.729	475.004	71.281	16,75	195
15	Denemarken	33.771	30.545	473.996	69.747	14,90	187
16	Oostenrijk	38.060	33.891	389.050	52.333	10,84	164
17	Israël	36.441	33.457	380.888	50.564	11,07	163
18	Noorwegen	25.669	23.478	313.551	48.095	13,29	155
19	Nieuw Zeeland	19.233	16.766	194.265	29.535	11,54	124
20	China	92.708	90.892	309.497	113.363	5,52	119

Tabel 3. Ranking en h-index voor de medische wetenschap en (medische) microbiologie.<sup>4</sup>

	LAND	PUBLICATIES	CITEERBARE PUBLICATIES	CITATIES	ZELF-CITATIES	CITATIES PER PUBLICATIE	H-INDEX
1	Verenigde Staten	21.412	19.089	274.905	134.979	13,37	127
2	Verenigd Koninkrijk	6.614	5.585	69.336	17.827	11,13	81
3	Duitsland	4.583	4.033	55.877	13.957	12,74	74
4	Nederland	2.151	1.958	34.755	6.338	17,54	74
5	Frankrijk	3.740	3.407	50.889	12.687	14,55	73
6	Canada	2.719	2.419	28.755	5.107	11,20	62
7	Japan	5.393	5.149	44.242	14.925	8,86	60
8	Spanje	4.801	3.909	31.119	9.422	6,78	57
9	Zweden	2.063	1.962	24.821	4.799	11,96	57
10	Australië	1.583	1.414	19.854	3.851	13,98	56
11	België	1.162	1.052	16.145	2.328	15,42	54
12	Zwitserland	1.430	1.294	19.128	2.582	14,73	54
13	Denemarken	1.402	1.340	17.012	2.962	12,57	54
14	Italië	4.061	3.728	26.258	5.816	6,69	53
15	Finland	913	873	13.601	2.465	15,01	52
16	Brazilië	2.962	2.825	18.994	7.497	7,71	44
17	Israël	743	683	9.241	1.270	13,11	43
18	Taiwan, Chinese provincie	1.212	1.169	9.141	2.462	10,80	40
19	Oostenrijk	508	454	6.126	671	13,25	39
20	India	2.776	2.353	10.310	3.503	5,18	38

is de Nederlandse medische microbiologie internationaal dus wel van een ander niveau. Het meest bijzonder is echter nog het wijd uiteenlopen van de ranking van het aantal publicaties (12) en de impact ervan gemeten als h-index (3/4). De output in aantal publicaties is vooral een variabele van de middelen die in het microbiologisch onderzoek worden gepompt. Hoe die inputverhoudingen liggen tussen landen is niet bekend (ook bij sportprestaties is niet bekend hoeveel is geïnvesteerd). Het mooie van de vergelijking door middel van de h-index, is dat is af te leiden of die output relatief van meer waarde is voor de wetenschap dan gemiddeld. Men zou kunnen stellen dat excellent onderzoek juist moet blijken uit een relatief hoog resultaat ten opzichte van de investering in die productie. Dat lijkt dus zo te zijn voor de Nederlandse medische microbiologie, gelet op de uiteenlopende ranking voor productie en waarde daarvan. Duitsland en Frankrijk hadden voor een ongeveer gelijke h-index veel meer publicaties nodig. Dat blijkt overigens ook uit een andere parameter, de eenvoudige verhouding van publicaties en citaties (de voorlaatste kolom in de tabellen). Daarbij is Nederland van de eerste 20 vermelde landen dan ook het land met de allerhoogste score (17,54). Deze parameter is niet zo geschikt voor een ranglijst, omdat bij heel kleine

aantallen publicaties dit quotiënt enorm vertekend kan zijn (eilandstaatjes met een enkele publicatie staan dan boven). Binnen deze selecte groep van belangrijke landen zegt dit echter wel iets.

#### Goede positie

Dat de Nederlandse medische microbiologie het zo goed doet, wisten wij zelf wel, hoewel men men vaak niet beseft hoe bijzonder het is dat in een sessie op een internationale bijeenkomst zo vaak wordt gesteld *“and yet another presentation from the Netherlands”*. Nederland is immers een tamelijk klein land qua omvang, vergeleken met de meeste concurrenten. Natuurlijk kan deze positie goed worden verklaard door bekend succesvol Nederlands werk in het vakgebied. Voorbeelden zijn hiv, luchtweg- en darmvirsussen, werk aan antibioticumresistentie en het beleid om die te voorkomen, ziekenhuishygiëne, selectieve darmdecontaminatie, snelle introductie van nieuwe moleculair-diagnostische technieken en vele verschillende andere onderdelen van het vakgebied. Ook is een algemeen voordeel van de Nederlandse wetenschap dat die snel en volledig in de brede Engelstalige literatuur wordt opgenomen, hetgeen voor citaties gunstig is ten opzichte van sommige grote landen die nog een eigen circuit in

hun landstaal kennen, al wordt dat steeds minder (vooral in Frankrijk, Duitsland, Rusland, China, Brazilië). Toch komt die buitenproportionale rol niet vanzelf tot stand en is het van belang deze bijzondere positie wel te kennen, te gebruiken en uit te dragen. Die biedt immers veel kansen, voor zowel jonge onderzoekers als beleidsmakers. Hoewel de Nederlandse medische microbiologie het ook tussen de andere medische vakgebieden wel opvallend goed doet (tabel 4 en figuur 1), zal duidelijk zijn dat ook de andere vakken en de Nederlandse wetenschap in bredere zin geen aanleiding geven tot negatieve geluiden over hun positie.

Met een blik op de relatieve omvang is duidelijk dat Nederland vrijwel steeds bijzonder hoog uitkomt; alleen Zweden en Zwitserland zijn vergelijkbare concurrenten maar blijven in tabel 2 relatief wat achter. Een bijzonder gegeven blijft wel de genoemde verhouding tussen productie en betekenis van het werk, als een criterium voor 'excellence'. De databank SJR gaat uit van een tijdschrift-indeling per vakgebied, die slechts een benadering is van de realiteit. Zo is er bij ons vakgebied een flink aantal titels ingedeeld bij het vakgebied infectieziekten en is een algemeen probleem dat de grote multidisciplinaire tijdschriften in deze output niet meetellen. Men kan echter stellen dat een positie in dit eigen, meer beperkt gedefiniëerde veld een goede graadmeter is voor de manifestatie op andere fronten.

### Ten slotte

Tijdens de Olympische Spelen was het opvallend dat de ranglijsten fanatieker werden gevolgd in het nieuws naarmate het aantal gouden medailles toenam, en dat er bijvoorbeeld in België veel minder aandacht voor bestond. In die zin is het logisch dat de observaties uit deze databank een prominente plaats krijgen in het *Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie*. Elders zal dat minder snel veel aandacht krijgen. Doe er wel uw voordeel mee dat u werkzaam bent in een vakgebied dat excelleert in internationaal perspectief. Laten wij dat zo houden en hier en daar eens op bescheiden wijze onder de aandacht brengen dat de input in medisch microbiologisch onderzoek in ons land zo uitstekend rendeert.

### Literatuur

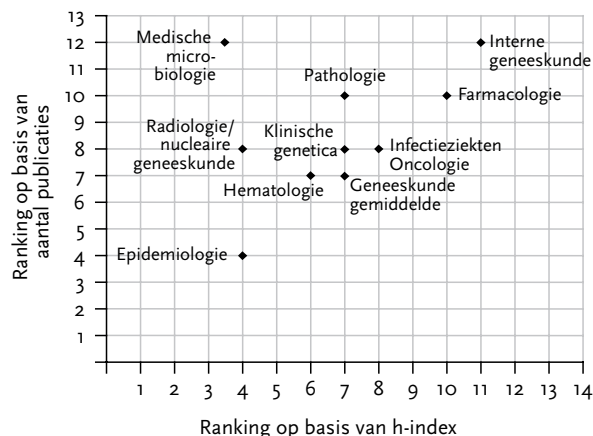
1. [Http://en.wikipedia.org/wiki/Hirsch\\_number](http://en.wikipedia.org/wiki/Hirsch_number).
2. Hirsch JE. Does the H index have predictive power? Proc Natl Acad Sci USA. 2007;104:19193-8.
3. Radicchi F, Fortunato S, Castellano C. Universality of citation distributions: toward an objective measure of scientific impact. Proc Natl Acad Sci USA. 2008;105:17268-72.
4. [Http://www.scimagojr.com/countryrank.php](http://www.scimagojr.com/countryrank.php). SJR SCImago Journal & Country Rank, data retrieved December 22, 2008.
5. [Http://www.scopus.com](http://www.scopus.com).

Tabel 4. Nederlandse wetenschappelijke publicaties van een aantal vergelijkbare medische vakgebieden op volgorde van h-index, met vermelding van de rangorde volgens het aantal publicaties van het betreffende vakgebied (1996-2007).<sup>4</sup>

VAKGEBIED	RANKING OP BASIS VAN H-INDEX	RANKING OP BASIS VAN AANTAL PUBLICATIES
Medische microbiologie*	3/4	12
Radiologie/nucleaire geneeskunde	4	8
Epidemiologie	4	4
Hematologie	6	7
Pathologie	7	10
Klinische genetica	7	8
Infectieziekten	8	8
Oncologie	8	8
Farmacologie	10	10
Interne geneeskunde	11	12
Geneeskunde gemiddelde	7	10

\* Tijdschriften in dit vakgebied volgens de SJR-indeling zijn onder meer: *Journal of Clinical Microbiology*, *Clinical Microbiology and Infection*, *Emerging infectious diseases*, *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, *BMC Microbiology*, *Journal of Medical Microbiology*, *Infection Control and Hospital Epidemiology*, *Pediatric Infectious Disease Journal*, *Microbiology and Immunology*, *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, *Sexually Transmitted Diseases*, *Sexually Transmitted Infections*, *International Journal of Medical Microbiology*, *Infection*, *Transplant Infectious Disease*, *Current Topics in Microbiology and Immunology*, *Current Opinion in Infectious Diseases*, *APMIS*.

Figuur 1. Grafische weergave van de gegevens van tabel 4.



Deze grafiek illustreert hoe het aantal publicaties en de h-index vaak een redelijk vaste verhouding hebben, terwijl de h-index voor de medische microbiologie relatief hoog is. Bij deze rangvolgorde geldt uiteraard: hoe lager, hoe beter.

# Een atypische presentatie van *Candida*-meningitis bij een ex-premature zuigeling

M.P. de Hosson, B.A. Semmekrot, A. Verrips, G.P.J.M. Gerrits, J.F.G.M. Meis

## Samenvatting

Bij een ex-premature (33 weken, 2060 gram) zuigeling met een gestoorde motorische ontwikkeling op de leeftijd van 5,5 maand was sprake van een verhoogde intracraniale druk. Het bleek te gaan om een *Candida*-meningitis door *Candida albicans*, zonder systemische symptomatologie. Na behandeling met amfotericine-B, fluconazol en flucytosine gedurende acht weken herstelde het kind van deze ernstige infectie maar hield het neurologische restverschijnselen over. Deze casus laat zien dat een atypische presentatie en de afwezigheid van typische risicofactoren kunnen leiden tot een vertraging in diagnose en behandeling van deze zeldzame aandoening op zuigelingenleeftijd.

**Trefwoorden:** *Candida*, meningitis, atypische presentatie, zuigeling

## Inleiding

*Candida*-meningitis is een van de meest voorkomende manifestaties (25 procent) van een invasieve candidose bij neonaten.<sup>1,2</sup> De presentatie van *Candida*-meningitis varieert van een subacuut ziektebeeld met voedingsproblemen en instabiele temperatuur tot het beeld van een klassieke bacteriële infectie met cardiorespiratoire instabiliteit en multiorgaanfalen.<sup>1</sup> Zelden presenteert een *Candida*-meningitis zich met een abnormale verandering van de hoofdomtrek, een afwijkende fontanel, convulsies, focale neurologische veranderingen of met zichtbare afwijkingen bij intracraniale beeldvormende diagnostiek (echo, MRI).<sup>3</sup> De meest voorkomende verwekker is *Candida albicans*.<sup>1</sup> Bij prematuren met een candidose wordt een incidentie van meningitis beschreven, variërend van 8,4 tot 21 procent.<sup>1,4</sup> Abnormale liquorbevindingen zoals een pleiocytose, eiwitverhoging en een verlaagde glucosewaarde bij een zuigeling met positieve bloed-, urine- of huidkweken voor *Candida* suggereert een infectie in het centrale zenuwstelsel, ook als de liquorkweek negatief is.<sup>3</sup> Er zijn geen gegevens bekend over de incidentie van *Candida*-meningitis bij zuigelingen. Er is weinig informatie beschikbaar over de neurologische ontwikkeling op lange termijn van prematuren met een

invasieve *Candida*-meningitis.<sup>2</sup> In deze casus wordt een ex-premature zuigeling beschreven met een gestoorde motorische ontwikkeling die na aanvullend onderzoek een *Candida*-meningitis bleek te hebben. De casus laat zien dat bij atypische presentatie en bij afwezigheid van risicofactoren toch sprake kan zijn van *Candida*-meningitis.

## Beschrijving casus

### Geen afwijkingen

De patiënt, een jongen, werd na een tot dan ongecompliceerd verlopen zwangerschap bij een termijn van 33 weken spontaan in stuitligging geboren. De apgarscores na 1 en 5 minuten waren respectievelijk 8 en 9, bij een geboortegewicht van 2060 gram (P25-50). Patiënt werd gedurende één dag op de neonatale intensiverecare-unit opgenomen in verband met aanhoudend kreunen, dat werd toegeschreven aan de moeizame stuitbevalling. Het directe neonatale beloop werd gekenmerkt door milde voedingsproblemen en hyperbilirubinemie. Wegens de onbegrepen prematuriteit en het kreunen werd na de geboorte gestart met amoxicilline (100 mg/kg) en gentamicine (3,5 mg/kg) intraveneus. Deze werden bij negatieve kweken en afwezigheid van klinische aanwijzingen voor infectie na respectievelijk 5 en 3 dagen gestaakt. Echo-encefalografie toonde periventriculaire echodensiteiten beiderzijds, passend bij de prematuriteit. Controle-echo-encefalografie bracht, behalve een ruim ventrikelsysteem, geen nieuwe bevindingen aan het licht. De schedelomtrek nam toe conform de curve. Klinisch-neurologisch onderzoek voor ontslag toonde geen afwijkingen.

Mw. M.P. de Hosson, arts-assistent, dr. G.P.J.M. Gerrits, kindergeneeskunde, afdeling Kindergeneeskunde, dr. A. Verrips, kinderneuroloog, afdeling Neurologie, dr. J.F.G.M. Meis, arts-microbioloog, afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten, Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, Nijmegen.  
Correspondentieadres: Dr. B.A. Semmekrot, kinderarts-neonatoloog, afdeling Kindergeneeskunde, Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, Postbus 9101, 6500 GS Nijmegen, e-mail: b.semmekrot@cwz.nl.



## Onrustig

Bij poliklinische controle op de leeftijd van acht weken werd een onrustige, gespannen zuigeling gezien met een gevarieerd bewegingspatroon en normale reflexen. Hij maakte goed contact, maar was gemakkelijk verstoortbaar en dysfoor. Een cerebrale MRI-scan toonde geen afwijkingen, behalve een licht toegenomen, maar nog binnen de norm liggende ventrikelgrootte. Op de leeftijd van 2,5 maand volgde een opname in verband met een urineweginfectie op basis van *Klebsiella oxytoca*. Echografie van de nieren en een mictiecystogram toonden geen afwijkingen. Het renogram toonde een afvloedbelemmering links met een dilatatie van het verzamelsysteem. Bij een urinekweek werd bij herhaling *Candida albicans* ( $10^3$ - $10^4$  CFU/ml) gevonden. Bloedkweken bleven negatief. Dit resultaat gaf geen aanleiding voor behandeling, omdat deze uitslag niet als een bewezen urineweginfectie met *Candida* werd beschouwd.

Op de leeftijd van drie maanden werd de patiënt opnieuw opgenomen in verband met onrust en ontroostbaar huilen. Differentiaaldiagnostisch werd gedacht aan koemelkeiwitalergie, gastro-oesofageale reflux of een urineweginfectie. Bij aanvullende diagnostiek waren er geen aanwijzingen voor een bacteriële urineweginfectie. In de urinekweek kon geen *Candida* worden aangetoond. Er werd gestart met een gehydrolyseerde voeding op caseïnebasis, zuurremming en een prokineticum, waarmee het iets beter leek te gaan. Bij controle op de leeftijd van vijf maanden viel een forse hypertonie op, waarbij patiënt moeilijk contact maakte. Er bleek sprake te zijn van forse orale candidose en voedingsproblemen, waarop de zuurremmende medicatie werd aangepast.

## Moeilijk contact

Op de leeftijd van 5,5 maand viel opnieuw op dat hij moeilijk contact maakte. Bij neurologisch onderzoek was er geen oogcontact, een wisselend naar links gerichte

nystagmus bij grotendeels geconjugeerde oogbewegingen, neiging tot opisthotonus, wisselende axiale tonus met neiging tot hypertonie, een duidelijke *headlag*, een asymmetrisch bewegingspatroon aan de extremiteiten, hoge reflexen en spasticiteit rechts meer dan links. Oogheekkundige evaluatie toonde de afwezigheid van fixatie en volgbewegingen, een sunsetfenomeen en bleke papillen in fundo. Differentiaaldiagnostisch werd er gedacht aan intracranieële drukverhoging op basis van een liquorresorptiestoornis of een infectie.

## Intracranieële druk

Hij werd opgenomen op de kinderafdeling waar een lumbaalpunctie met drukmeting werd verricht. Hierbij bleek sprake te zijn van een sterk verhoogde intracranieële druk van  $> 50$  cm H<sub>2</sub>O en tevens pleiocytose, eiwitverhoging en een verlaagde glucoseconcentratie (leukocyten  $452 \times 10^6/l$ , erythrocyten  $6 \times 10^6/l$ , eiwit 1,48 g/l, glucose 1,5 mmol/l bij een bloedglucose van 6,1 mmol/l). In het bloed waren geen verhoogde infectieparameters (CRP, leukocyten) aantoonbaar.

Onder verdenking van een meningitis werd na afname van kweken aanvankelijk gestart met cefotaxim (200 mg/kg). Toen de liquorkweek positief bleek te zijn voor *Candida albicans* (MIC fluconazol 0,125 mg/l), werd de cefotaxim vervangen door fluconazol (12 mg/kg op dag 1, daarna 6 mg/kg/24 uur) intraveneus. In verband met persisterende positieve liquorkweken werd de fluconazol na 14 dagen vervangen door amfotericine-B (1 mg/kg/dag) en flucytosine (100 mg/kg/dag) intraveneus (tabel 1). Twee weken na start van de behandeling waren celgetal, eiwitgehalte en glucosegehalte in de liquor genormaliseerd. De kweken bleven toen negatief voor *Candida albicans*. De Mannan-test (Platelia Candida: BioRad, Marnes-la-Coquette, Frankrijk) liet een duidelijke afname zien van het *Candida*-antigeen. Het verloop van de diverse

Tabel 1. Liquordruk en laboratoriumparameters liquor

LIQUORPUNCTIE (LP)	LP1	LP2	LP3	LP4	LP5	LP6	LP7	LP8	LP9	LP10	LP11
Datum	27-11	5-12	11-12	15-12	19-12	23-12	27-12	30-12	3-1	6-1	9-1
Druk cm H <sub>2</sub> O (< 15 cm H <sub>2</sub> O)	> 50	8-10	30	30-34	30-50	-	60	> 50	9	21-23	-
Leukocyten $\times 10^6/l$ (0-4)	452	368	361	47	275	158	35	20	42	6	3
Erythrocyten $\times 10^6/l$ (0)	6	18	9	11	83	80	0	17	0	13	1
Eiwit g/l (0,17-0,35)	1,48	1,33	1,33	1,05	0,95	0,89	0,72	0,83	0,66	0,39	0,39
Glucose mmol/l (2,7-3,7)	1,5	1,6	1,7	1,7	2,0	2,6	-	2,4	2,9	3,0	3,2
Kweek, <i>Candida albicans</i> ?	ja	ja	ja	ja	-	-	-	-	nee	-	nee
<i>Candida</i> -antigeen ng/ml (0)	-	-	> 2,0	-	-	-	> 3,3	> 2,0	-	0,9	0,3
	*			**					***		

\* Gestart met fluconazol intraveneus

\*\* Overgegaan naar amfotericine-B en flucytosine intraveneus

\*\*\* Overgegaan naar fluconazol en flucytosine per os (normaalwaarden tussen haakjes)

microbiologische parameters staat weergegeven in tabel 1. Antimycotica werden vier weken gecontinueerd nadat de liquor steriel was geworden. In verband met de verhoogde intracraniale druk werd tweemaal per week een ontlastende liquorpunctie verricht. De immuniteit is bij deze patiënt in kaart gebracht door kwantitatieve bepaling van B- en T-lymfocyten en immunoglobulines. Deze waren normaal. Bij poliklinische controle op de leeftijd van 12 maanden bleek sprake te zijn van neurologische symptomatologie, bestaande uit een sterk verminderde visus, een fijnslagige nystagmus, veelvuldige strekbewegingen met een gegeneraliseerde hypertonie, een slechte hoofdbalans en hyperreflexie.

## Discussie

### Incidentie

Bij jonge prematuren of prematuren met een gewicht < 1000 gram wordt *Candida*-meningitis het meest beschreven. Bij oudere prematuren en voldragen zuigelingen is een *Candida*-meningitis zeldzaam. Er zijn geen gegevens bekend over de incidentie bij zuigelingen maar in een cohortonderzoek bij prematuren met een geboortegewicht < 1000 gram bleek dat 27 van de 320 patiënten met een invasieve candidose ook een positieve liquorkweek voor *Candida* (8,4 procent) hadden.<sup>4</sup> In een overzichtsartikel zijn 21 onderzoeken bekeken, met in totaal 564 neonaten met een candidose. De mediane prevalentie van een positieve liquorkweek bij deze patiënten is 16 procent.<sup>5</sup> Fernandez et al. beschrijven in een review 23 gevallen van meningitis bij 106 neonaten met candidose (21 procent). Meestal zijn er bij systemische *Candida*-infectie en *Candida*-meningitis duidelijke risicofactoren aanwezig, zoals premature geboorte, laag geboortegewicht, gebruik van breedspectrumantibiotica, parenterale voeding, gebruik van corticosteroïden of invasieve procedures zoals intravasculaire arteriële of veneuze katheters.<sup>6,7</sup>

### Atypische presentatie

Bij de beschreven patiënt was prematuriteit de enige risicofactor. Het is waarschijnlijk dat de atypische presentatie bij deze patiënt heeft geleid tot een vertraging in diagnose en behandeling. Immers, onduidelijk is hoe deze zuigeling de *Candida*-meningitis heeft opgelopen en hoe lang deze al bestond voordat er neurologische symptomen ontstonden. Er bestonden tijdens de tweede opname chronisch klachten van spruw en de urinekweek (via een plaszakje) was bij herhaling positief voor *Candida albicans* (telling  $10^3$ - $10^4$  kve/ml). In combinatie met de bekende afvloedbelemmering van de linkernier was dit aanleiding om *Candida*-bezoars uit te sluiten. De geconsulteerde oogarts zag in fundus geen laesies verdacht voor *Candida*-infiltraten. Wellicht had de dubieuze urinekweek in de aanloopperiode aanleiding moeten vormen voor het opvangen van urine via een urinekatheter of suprapubische blaaspunctie,

om een infectie van de urinewegen met *Candida albicans* nader te evalueren. Dit wordt ondersteund door gegevens uit de literatuur die erop wijzen dat de aanwezigheid van *Candida albicans* in een normale steriele ruimte (zoals de urinewegen) moet leiden tot nader onderzoek naar andere uitingen van systemische *candida*-infectie.<sup>8</sup>

Systemische tekenen van infectie bij *Candida*-meningitis worden in 70 procent van de gevallen beschreven.<sup>9</sup> Voorafgaand aan de diagnose toonde onze patiënt op geen enkel moment systemische tekenen van deze infectie.

## Behandeling

Succespercentages van antifungale behandeling zijn wisselend. De literatuur over behandeling van invasieve candidose met fluconazol vermeldt succespercentages van circa 60 procent bij volwassenen.<sup>10</sup> Verder blijkt dat de combinatie amfotericine-B/flucytosine een snellere liquorsterilisatie geeft bij cryptokokkenmeningitis.<sup>11</sup> Er zijn nog geen onderzoeken verricht naar deze combinatie bij *Candida*-meningitis. Fluconazol en flucytosine penetreren goed in de liquor en er is sprake van een synergistisch effect van de twee middelen. Ook amfotericine en flucytosine hebben een synergistische werking.<sup>3</sup> Alleen Fernandez et al. geven aan dat behandeling met alleen amfotericine-B adequaat is bij neonaten met een meningitisinfectie op basis van *Candida albicans*. Bovendien hebben Scarcella et al. een observationeel onderzoek uitgevoerd waarin een gunstige werking van liposomaal amfotericine-B wordt waargenomen.<sup>12</sup> Ondanks veelvuldig gebruik van fluconazol is in-vitroresistentie in Nederland zeldzaam.<sup>13</sup> Klinisch minder goed reageren op fluconazoltherapie is, ondanks in-vitrogevoeligheid, zeer goed mogelijk, zoals deze casus liet zien.

Het bleek dat na één maand behandeling de hersendruk was genormaliseerd, de liquorkweek negatief was en ook het *Candida*-antigeen niet meer kon worden aangetoond. Ondanks goede in-vitrogevoeligheid van het liquorisolaat voor azolen en amfotericine-B werd de liquor pas kweeknegatief na behandeling met zowel amfotericine-B en flucytosine. Wij adviseren dan ook om te overwegen om amfotericine-B te combineren met flucytosine. Antimycotica werden vier weken gecontinueerd nadat de liquor steriel was geworden. Ondanks deze uitgebreide behandeling bleek er uiteindelijk sprake te zijn van neurologische restverschijnselen.

## Conclusie

*Candida*-meningitis is een veelvoorkomende manifestatie van invasieve candidose bij kleine prematuren met doorgaans een typische presentatie. Bij zuigelingen is deze echter zeldzaam, met als gevolg dat er een aanzienlijke vertraging in de diagnostiek kan zijn. Deze casus leert dat bij een atypische presentatie en afwezigheid van de klassieke risicofactoren toch sprake kan zijn van *Candida*-

meningitis. Is er sprake van een *Candida*-kolonisatie van steriele ruimten, dan dient ook bij zuigelingen een liquor-punctie te worden overwogen.

### Summary

At the age of 5.5 months, an ex-premature infant (33 weeks, 2060 grammes) presented with abnormal motor development. An increase in intracranial pressure was found, which was caused by a *Candida albicans* meningitis. There were no systemic signs of meningitis. After treatment with amfotericine-B, fluconazole and 5-fluorocytosine over a period of eight weeks, the patient recovered, although neurological abnormalities persisted. This case report shows that an atypical presentation and absence of typical risk factors may lead to delay in diagnosis and treatment of this uncommon disease in infancy.

### Literatuur

1. Fernandez M, Moylett EH, Noyola DE, Baker CJ. Candidal meningitis in neonates: a 10-year review. *Clin Infect Dis*. 2000;31:458-63.
2. Baradkar V, Taklikar S. Meningitis caused by *Candida albicans* in a premature neonate. *J Pediatr Neurosci*. 2007;2:90-1.
3. Faix RG, Chapman RL. Central nervous system candidiasis in the high-risk neonate. *Semin Perinatol*. 2003;27:384-92.
4. Benjamin DK Jr, Poole C, Steinbach WJ, et al. Neonatal candidemia and end-organ damage: a critical appraisal of the literature using meta-analytic techniques. *Pediatrics*. 2003;112:634-40.
5. Benjamin DK Jr, Stoll BJ, Fanaroff AA, et al. Neonatal candidiasis among extremely low birth weight infants: risk factors, mortality rates, and neurodevelopmental outcomes at 18 to 22 months. *Pediatrics*. 2006;117:84-92.
6. Fernandez M, Moylett EH, Noyola DE, et al. Candidal meningitis in neonates: a 10-year review. *Clin Infect Dis*. 2000;31:458-63.
7. Bergman KA, Meis JF. Systemische candida-infecties op een neonatale intensive care unit. *Tijdschr Kindergeneesk*. 1995;63:261-6.
8. Faix RG. Systemic *Candida* infections in intensive care nurseries: high incidence of central nervous system involvement. *J Pediatr*. 1984;105:616.
9. Friedman S, Richardson SE, Jacobs SE, et al. Systemic candida infection in extremely low birth weight infants: short term morbidity and long term neurodevelopmental outcome. *Pediatr Infect Dis J*. 2000;19:499-505.
10. Reboli AC, Rotstein C, Pappas PG, et al. Anidulafungin versus fluconazole for invasive candidiasis. *N Engl J Med*. 2007;14:2472-82.
11. Brouwer AE, Rajanuwong A, Chierakul W, et al. Combination antifungal therapies for HIV-associated cryptococcal meningitis: a randomised trial. *Lancet*. 2004;29:1764-7.
12. Scarcella A, Pasquariello MB, Guigliano B, et al. Liposomal amphotericin B treatment for neonatal infections. *Pediatr Infect Dis J*. 1998;17:146-8.
13. Verduyn Lunel FM, Curfs-Breuker I, Illnait-Zaragozi M, et al. Fluconazole en voriconazolgevoeligheid van klinische gistisolaten. Resultaten van een Nijmeegs onderzoek over 9 jaar. *Ned Tijdschr Med Microbiol*. 2008;16:12-9.

# Problemen met de Chlamydia Handilab-C-test en andere *point-of-care*-testen

B.M.W. Diederer, D. Veenendaal, E.P.F. IJzerman, E.E.J. Ligtoet

## Inleiding

Bij consumenten bestaat in toenemende mate vraag naar het zelf of aan het ziekbed uitvoeren van gezondheidstesten, ook wel *point-of-care*-testen genoemd. Naast de bekende testen, zoals de zwangerschapstest, zijn ook steeds vaker microbiologische testen beschikbaar voor diagnostiek buiten het laboratorium. Een theoretisch voordeel van zelftesten zou zijn dat ze snel geruststelling zouden kunnen bieden buiten het medische circuit om. Dat de dagelijkse praktijk wezenlijk anders kan zijn en kan leiden tot onnodige onrust dan wel valse geruststelling, bewijst het volgende voorval.

## Beoordeling en interpretatie

Door een huisarts werd onderzoek aangevraagd op *C. trachomatis* en *N. gonorrhoeae* uit een cervixuitstrijk. Bij de klinische gegevens was vermeld: "Zelftest; licht positief". DNA-detectie van beide micro-organismen was negatief (Cobas Amplicor). Als commentaar bij de uitslag werd vermeld: "Geen aanwijzingen voor een infectie met *C. trachomatis* of *N. gonorrhoeae*. Ik zou het op prijs stellen de gegevens over de fabrikant van deze 'zelftest' doorgestuurd te krijgen omdat zelftesten onbetrouwbare resultaten kunnen geven." Na een bericht van de huisarts bleek het te gaan om de zogeheten Chlamydia Handilab-C-test, besteld via [www.test-point.nl](http://www.test-point.nl).

Bovenstaand voorbeeld illustreert het probleem van een *point-of-care*-SOA-test in de thuissituatie. De Raad voor de Volksgezondheid heeft verklaard het gebruik van zelftesten te ondersteunen, mits de consument in staat is de consequenties van zelftesten in te zien en benadrukt derhalve het belang van goede informatie.<sup>1</sup> Maar is de consument daartoe wel in staat? A priori-kansen, sensitiviteit, specificiteit en andere parameters om de waarde van een test in te schatten zijn vaak onbekende begrippen voor de consument, zeker als het gaat om emotioneel belastende seksueel overdraagbare infectieziekten. Een positieve test betekent vaak dat de patiënt alsnog naar de dokter moet voor behandeling en advies. Dat geldt evenzo bij een negatieve test waarbij de symptomen persisteren of als sprake is van een hoog risicocontact.

Een Noors onderzoek uit 2007 laat de volgende resultaten zien bij het gebruik van de Chlamydia Handilab-C-test.<sup>2</sup> In totaal werden 157 vrouwen getest met zowel een PCR als de Handilab-test; 16 waren positief met PCR. Slechts vier (25 procent) werden met behulp van de zelftest als positief geïnterpreteerd en negen als dubieus (gevoeligheid tussen 25 en 57 procent afhankelijk of een dubieuze test als positief wordt geteld). De helft van de vrouwen gaf aan dat ze onzeker waren over de interpretatie van de test. Dertien vrouwen met een negatief PCR-resultaat vonden een positief resultaat in de Handilab-C-test. Daarmee is de positiefvoorspellende waarde van deze test uitermate beroerd: 24 procent. De auteurs concluderen daarom ook terecht: "Most women had no problems taking the vaginal swab test, but Handilab C did not fulfil its claim to be a "safe" rapid test. The majority were uncertain about how to interpret the result or had false negative or false positive results."

## Oproep

Misschien wordt het tijd om bepaalde microbiologische *point-of-care*-testen als wetenschappelijke vereniging af te keuren: de overgrote meerderheid van deze zelftesten is van onvoldoende kwaliteit en brengt evidente problemen met zich mee.

U kunt uw reactie mailen aan de redactie van het NTMM, e-mail: [ntmm@zuidencom.nl](mailto:ntmm@zuidencom.nl).

## Literatuur

1. [http://www.rvz.net/cgi-bin/adv.pl?advi\\_rellID=56&chap\\_rellID=4&last=1](http://www.rvz.net/cgi-bin/adv.pl?advi_rellID=56&chap_rellID=4&last=1).
2. Moi H. Handilab C Chlamydia for home testing is not what it claims. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2007;127:2083-5.

Dr. B.M.W. Diederer, dr. D. Veenendaal, dr. E.P.F. IJzerman, dr. E.E.J. Ligtoet, artsen-microbioloog.  
Correspondentieadres: Dr. B.M.W. Diederer, Streeklaboratorium voor de Volksgezondheid Kennemerland, Boerhaavelaan 26, 2035 RC Haarlem, e-mail: [b.diederer@streeklabhaarlem.nl](mailto:b.diederer@streeklabhaarlem.nl)

# Infecties bij gebruik van TNF-alfaremmers

J. Span, H. Brandt-Dominicus, S. Simonian, T. van Rossum, B. Voordouw

## Inleiding

Sinds 2005 zijn in Nederland remmers van *tumor necrosis factor alfa* (TNF-alfa) geregistreerd. Deze middelen zijn een belangrijke toevoeging aan het arsenaal van behandelmethodieken voor een aantal (auto-immuun)ziekten, waaronder reuma, de ziekte van Crohn, multiple sclerose (MS) en psoriasis. Deze middelen zijn echter niet vrij van bijwerkingen. De meest voorkomende bijwerkingen zijn reacties op de injectieplaats (9 procent), maligniteiten (3 procent) en infecties (20 procent).<sup>1</sup>

Naast een verhoogde gevoeligheid voor nieuwe infecties veroorzaken TNF-alfaremmers ook een reactivatie van latente infecties. Verder kunnen infecties tijdens een behandeling met TNF-alfaremmers een atypisch verloop vertonen.<sup>2</sup> Ten tijde van registratie was het optreden van zeldzame infecties – gezien het geringe aantal behandelde patiënten – niet bekend. Ook de omvang van de reactivatie van latente infecties was niet duidelijk.

## Infecties

De eerste signalen dat opportunistische infecties kunnen optreden tijdens de behandeling met TNF-alfaremmers kwamen uit *postmarketing-surveillance* en observationele onderzoeken.<sup>3,4</sup> Uit de verschillende onderzoeken met diverse TNF-alfaremmers<sup>5</sup> (infliximab, adalimumab, entrect) bleek dat patiënten met reuma twee- tot driemaal zo veel kans hebben op een ernstige infectie bij behandeling met TNF-alfaremmers dan bij behandeling met de klassieke DMARD's (*disease modifying antirheumatic drugs*). De meest voorkomende infecties waren granulomateus van oorsprong (tuberculose, histoplasmose en coccidioïdomycose).

Naast algemeen bekende bacteriële infecties zoals *Streptococcus pneumoniae* werden tijdens het gebruik van TNF-alfaremmers ook bijzondere infecties gezien, onder meer met *Listeria monocytogenes*. Virale infecties die frequent worden gemeld, zijn: hepatitis-B en -C, hiv, herpesvirussen (cytomegalovirus, epstein-barrvirus, herpes simplex, varicellazostervirus), *Molluscum contagiosum*, para-influenza en de gedissemineerde adenovirusinfecties.<sup>6</sup> Ook zijn enkele gevallen van progressieve multifocale leuko-encefalopathie (PML) – vaak fataal verlopend – gemeld.

Latente infecties met schimmels zoals *Histoplasma capsulatum* en *Coccidioides immitis* kunnen tijdens de behandeling met TNF-alfaremmers weer worden gereactiveerd. Andere schimmels die infecties kunnen

veroorzaken, zijn: *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* spp. en *Pneumocystis jirovecii*.

## Melden

Gezien de grote kans op deze bijwerkingen en de mogelijke consequenties voor de patiënt, is het van belang dat behandelaren van patiënten die een TNF-alfaremmers nodig hebben, altijd zijn bedacht op onverwachte en/of atypische infecties. Verder is het te verwachten dat het hierboven gegeven overzicht lang niet volledig is. Dit betekent dat het ook relevant is dat ook elke nieuwe, niet eerder beschreven casus wordt gemeld. Uiteindelijk is het in het belang van de patiënt wanneer er een zo compleet mogelijk beeld ontstaat over de voor- en nadelen van deze middelen.

Melden aan Lareb kan digitaal via [www.lareb.nl](http://www.lareb.nl). Voor overige vragen of informatie kunt u ook bij het CBG terecht ([www.cbg-meb.nl](http://www.cbg-meb.nl)).

## Literatuur

1. Lees CW, Ali AI, Thompson AI, et al. The safety profile of anti-tumour necrosis factor therapy in inflammatory bowel disease in clinical practice: analysis of 620 patient-years follow-up. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009;29(3):286-97.
2. Sari I, Birlik M, Akar S, et al. Atypical infectious mononucleosis in a patient receiving tumor necrosis factor alpha inhibitory treatment. *Rheumatol Int.* 2008 Nov 26. [Epub ahead of print]
3. Kroesen S, Widmer AF, Tyndall A, et al. Serious bacterial infections in patients with rheumatoid arthritis under anti-TNF-alpha therapy. *Rheumatology.* 2003;42(5):617-21.
4. Crum NF, Lederman ER, Wallace MR. Infections associated with tumor necrosis factor-alpha antagonists. *Medicine.* 2005;84(5):291-302.
5. Bongartz T, Sutton AJ, Sweeting MJ, et al. Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies: systematic review and meta-analysis of rare harmful effects in randomized controlled trials. *JAMA.* 2006;295(19):2275-85.
6. Domm S, Cinatl J, Mrowietz U. The impact of treatment with tumour necrosis factor-alpha antagonists on the course of chronic viral infections: a review of the literature. *Br J Dermatol.* 2008 Dec;159(6):1217-28. [Epub 2008 Sep 25]
7. Furst DE. The risk of infections with biologic therapies for rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum.* 2008 Dec 29. [Epub ahead of print]

J. Span, H. Brandt-Dominicus, S. Simonian, T. van Rossum, B. Voordouw, namens de klinische beoordelaars van de Infectieziektgroep.  
Correspondentieadres: College ter Beoordeling van Geneesmiddelen, Postbus 16229, 2500 BE Den Haag, e-mail: [ac.voordouw@cbg-meb.nl](mailto:ac.voordouw@cbg-meb.nl).

# Exact molecular typing of *Aspergillus fumigatus* Methods and applications

J.A. de Valk-van Haren

## Inleiding

Op 25 november 2008 is mevrouw J.A. (Hanneke) de Valk gepromoveerd aan de Radboud Universiteit te Nijmegen. Zij heeft onderzoek gedaan op de afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten van het Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis te Nijmegen. Promotor was prof. dr. A. Voss en copromotoren waren dr. C.H.W. Klaassen en dr. J.F.G.M. Meis (allen Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, Nijmegen). Hierna volgt een samenvatting van haar proefschrift 'Exact molecular typing of *Aspergillus fumigatus*. Methods and applications'.

**Trefwoorden:** *Aspergillus fumigatus*, moleculaire typering, short tandem repeats

## Samenvatting

*Aspergillus*-soorten zijn schimmels die wereldwijd veel voorkomen. Deze schimmels kunnen grote hoeveelheden sporen produceren die in de omgeving worden verspreid. Van alle soorten is *Aspergillus fumigatus* het meest betrokken bij humane infecties. Om besmettingsroutes tussen omgeving en klinische isolaten beter in kaart te brengen, dient gebruik te worden gemaakt van moleculaire typeringsmethoden. De genetische variabiliteit binnen *A. fumigatus*-isolaten is erg hoog, zodat typeringsmethoden een hoog discriminerend vermogen en een goede reproduceerbaarheid moeten hebben om ongerelateerde isolaten van elkaar te kunnen onderscheiden. De huidige methoden hebben een beperkt discriminerend vermogen of een beperkte reproduceerbaarheid. Microsatellieten of short tandem repeats (STR's) laten echter een hoog discriminerend vermogen zien tussen verschillende isolaten uit een grote variëteit aan micro-organismen. Ze worden ook veel gebruikt als hogeresolutie-fingerprinting-techniek voor het humane genoom. In dit proefschrift wordt een nieuwe typeringsmethode beschreven voor *A. fumigatus*, de zogenoemde STRAf-methode, gebaseerd op negen STR's voor exacte en hogeresolutie typering. Verder richt dit proefschrift zich op twee hoofdthema's, namelijk de technische aspecten van deze nieuwe methode en de klinische toepassingen.

## Technische aspecten

Allereerst is de STRAf-methode vergeleken met de AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)-methode en met de RISC (Retrotransposon Insertion-Site Context)-typering. Over het algemeen was er een zeer goede overeenkomst tussen de resultaten van de STRAf-, RISC- en AFLP-methode. Daarnaast is de robuustheid van de STRAf-methode onderzocht door de amplificatiecondities van de methode te variëren. Extreme condities zorgden ervoor dat het signaal verdween; als echter een signaal werd verkregen, waren de resultaten identiek. De reproduceerbaarheid en de toepasbaarheid van de STRAf-methode is getest in verschillende instellingen, waarbij nieuw ontwikkelde allelische ladders zijn gebruikt. Vijf laboratoria hebben onafhankelijk van elkaar 18 monsters geanalyseerd. Met het gebruik van de allelische ladders was het voor alle deelnemers mogelijk om identieke resultaten te genereren voor alle STRAf3-merkers in bijna alle monsters met een grote verscheidenheid aan experimentele condities. De stabiliteit van de individuele merkers is ook onderzocht in 100 overentingen van vijf ongerelateerde *A. fumigatus*-isolaten. Er zijn vijf veranderingen opgetreden in het aantal kopieën.

## Klinische toepassingen

De STRAf-methode is ingezet om een beter inzicht te krijgen in de verspreidingsroute bij patiënten met invasieve aspergillosis (IA). Daarvoor zijn 55 isolaten afkomstig uit luchtwegen weefselmaterialen van 15 patiënten met bewezen IA getypeerd. Alle isolaten van een patiënt, die niet afkomstig zijn uit de luchtwegen, behoren tot hetzelfde genotype. Als bij één patiënt echter meerdere genotypen zijn gevonden, zijn deze isolaten gekweekt uit respiratoire monsters. De STRAf-methode is ook getest op een set van epidemiologisch gerelateerde isolaten, verkregen uit zes verschillende IA-uitbraken. In twee van deze uitbraken zijn identieke genotypen gevonden.

Correspondentieadres: Dr. J.A. de Valk-van Haren, afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten, Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, Postbus 9015, 6500 GS Nijmegen, e-mail: h.v.haren@cwz.nl.

in klinische en omgevingsisolaten. Tevens zijn 204 isolaten getypeerd, verkregen van 36 patiënten met cystic fibrosis (CF), om meer inzicht te krijgen in de luchtwegkolonisatie van *A. fumigatus* bij CF-patiënten. De isolaten zijn verzameld uit opeenvolgende sputummonsters over een periode van vier maanden tot 9,5 jaar. Er zijn verschillende kolonisatiepatronen gevonden. Een opmerkelijk resultaat uit dit onderzoek is dat bij twee patiënten identieke isolaten zijn gevonden over een periode langer dan negen jaar. Verder is de STRAf-methode ingezet om *A. fumigatus* direct te typeren in formalinegefixeerde paraffineweefsels (FFPE) en seramonters. In longweefsel was het mogelijk een genotype te genereren en bij één patiënt was het zelfs mogelijk een genotype in serum aan te tonen. Dit maakt het mogelijk om *A. fumigatus* te detecteren en te typeren in klinische materialen, zonder deze schimmel eerst te kweken.

### Conclusie

In dit proefschrift wordt voor de typering van *A. fumigatus* een nieuwe methode – de STRAf-methode – beschreven

en geëvalueerd. Deze methode laat verschillende karaktereigenschappen zien die evident zijn voor een goede typeringmethode. Het belangrijkste is dat deze methode ongerelateerde isolaten kan onderscheiden. Typeringsresultaten van epidemiologisch gerelateerde verzamelingen laten identieke genotypen zien, en de resultaten komen overeen met andere goed discriminerende typeringstechnieken. Andere voordelen van deze methode zijn de lage hoeveelheid benodigd DNA, het automatisch toekennen van lengtes aan PCR-producten en het relatief gemakkelijk interpreteren van de gegevens. De STRAf-methode is snel en er kunnen veel monsters tegelijk worden geanalyseerd doordat de PCR's bestaan uit multiplexreacties.

Door de lage kosten, de robuustheid en de reproduceerbaarheid tussen verschillende instellingen, in combinatie met het hoge onderscheidend vermogen van deze methode is het mogelijk grote hoeveelheden isolaten te analyseren en gegevens uit te wisselen tussen laboratoria over de hele wereld.

### NVAB-CURSUS

## ‘Behandeling van patiënten met HIV/Aids’



Op donderdag 17 september 2009 verzorgt de NVAB voor de zevende maal de cursus ‘Behandeling van patiënten met HIV/Aids’, in het Descartes-Centrum te Utrecht. Dit is een praktijkgerichte basiscursus over de behandeling van patiënten met hiv/aids. Deze is speciaal bedoeld voor arts-assistenten, specialisten en artsen die in hun dagelijks werk te maken krijgen of hebben met patiënten met een hiv-infectie. De cursus is niet bedoeld voor aidsbehandelaren of fellows infectieziekten die reeds de masterclass hebben

gevolgd. Wilt u zich aanmelden of meer informatie? Neem dan contact op met Van Zuiden Communications B.V., Marina Kapteyn, tel. 0172 4761 91, e-mail: kapteyn@zuidencom.nl. U ontvangt dan een aanmeldingsformulier.

# Variability of hepatitis C virus Relevance to treatment outcome and course of infection

J. Schinkel

## Inleiding

Op 22 oktober 2008 is mevrouw J. (Janke) Schinkel gepromoveerd aan de Rijksuniversiteit van Leiden. Zij heeft onderzoek gedaan op de afdeling Medische Microbiologie van het Leids Universitair Medisch Centrum. Promotoren waren prof. dr. L. Kroes en prof. dr. Willy Spaan. Hierna volgt een samenvatting van haar proefschrift over genetische variatie van het hepatitis-C-virus en het effect ervan op behandeluitkomst en het verloop van de infectie.

**Trefwoord:** hepatitis-C, genetische heterogeniteit, alfa-interferon

## Samenvatting

Dit proefschrift heeft chronische hepatitis-C als onderwerp. Hepatitis-C-virus (HCV) is een RNA-virus dat in veel gevallen leidt tot chronische hepatitis. Behandeling bestaat uit het toedienen van alfa-interferon in combinatie met ribavirine gedurende enkele maanden tot een jaar. HCV wordt gekenmerkt door een hoge mate van genetische heterogeniteit.

## Onderzoek

In dit proefschrift werd onderzocht of en hoe deze genetische heterogeniteit is gecorreleerd met de uitkomst van behandeling met interferon, alsmede hoe het virale genoom evolueert tijdens de chronische fase van infectie. Aan de basis van dit proefschrift ligt een onderzoek waarin werd bekeken of het succespercentage van de behandeling stijgt wanneer de dosis interferon wordt verhoogd bij initiële non-responders. Die benadering bleek helaas niet zinvol. Uit dit onderzoek kon wel een aantal factoren worden gedestilleerd die de uitkomst van de behandeling konden voorspellen. De belangrijkste voorspeller van uitkomst bleek het niet meer kunnen aantonen van HCV-RNA vier weken na start van de behandeling.

In vervolgonderzoeken is gekeken of mutaties in een centraal domein van het non-structurele eiwit 5A – de zogeheten ISDR (*interferon sensitivity determining region*)–

de uitkomst van behandeling zou kunnen voorspellen. Omdat sommige, vooral Japanse, onderzoeken deze correlatie hadden gevonden, maar andere (met name Europese) onderzoeken niet, werden NS5A-sequenties van voor genotype 1 geïnfecteerde patiënten afkomstig uit de hele wereld gepoold geanalyseerd met behulp van een meta-analyse. Er werd gevonden dat ook buiten Japan een correlatie tussen mutaties in de 'ISDR' en uitkomst van behandeling bestaat, maar dat dit effect in Japan veel sterker is. Een verklaring voor de minder sterke correlatie tussen mutaties en respons op behandeling buiten Japan is dat in Japan 'mutante' virussen meer mutaties hebben dan de niet-Japanse virussen, en dat juist bij deze 'supermutanten' een hoge dosis interferon, zoals in Japan vaak wordt gebruikt, leidt tot een hogere respons.

In een ander onderzoek werd opnieuw hetzelfde NS5A-gen onderzocht om te kijken of mutaties in de 'ISDR' werden geïntroduceerd door ribavirine, een breedspectrumantiviraal middel, hetgeen in combinatie met interferon de kans op klaring van het virus door behandeling sterk verhoogt. Het werkingsmechanisme van ribavirine is niet exact opgehelderd. Aanleiding voor dit onderzoek was de bevinding dat ribavirine in poliovirus, evenals HCV een RNA-virus, mutaties in het genoom introduceert. Deze mutagene eigenschap van ribavirine heeft uiteindelijk tot gevolg dat het virus genetische informatie verliest en een genetische *meltdown* ondergaat. Hoewel dit fenomeen in vitro in verschillende laboratoriumsystemen is aangetoond, konden wij een mutageen effect op viraal RNA bij patiënten niet aantonen.

Vervolgens werd gekeken of voor genotype 3a, een genotype dat veel minder genetische variatie kent dan genotype 1, ook een correlatie bestaat tussen mutaties in het C-terminale

Correspondentieadres: Dr. J. Schinkel, afdeling Virologie, AMC,  
Postbus 22660, 1100 DD, Amsterdam, e-mail j.schinkel@amc.uva.nl



uiteinde van het non-structurele eiwit 5A en uitkomst van behandeling. Tevens werd daarbij een deel van het gen dat codeert voor virale envelopeiwit (E2) ook onderzocht bij verschillende patiënten. De reden om ook een deel van E2 te onderzoeken was dat in vitro was gevonden dat (een deel van) E2 kan binden aan PKR, een cellulaire factor die translatie tegengaat. PKR is daardoor een antiviraal eiwit, aangezien het stilleggen van de 'eiwitfabriek' van de cel ook voorkomt dat een virus zijn eigen eiwitten kan laten maken. Door nu PKR te binden, zou HCV een manier hebben gevonden om deze antivirale activiteit van de gastheercel tegen te gaan. In dit onderzoek vonden we voor beide onderzochte delen van het genoom een correlatie tussen mutaties en de kans op klaren van het virus door behandeling.

Als laatste werd onderzocht hoe tijdens de chronische fase van het infectie het virus evolueert in een variabel deel van het envelopeiwit E2 en hoe deze 'evolutiesnelheid' zich verhoudt tot verschillende parameters, zoals genotype van het virus en de diversiteit van de viruspopulatie bij de patiënt. Voor het modelleren van de veranderingen van

het virus in de tijd, is gebruikgemaakt van het softwareprogramma BEAST, dat een Bayesiaans statistisch model incorporeert dat gebruik maakt van de *coalescent*-theorie uit de populatiegenetica. Dit model is specifiek ontwikkeld voor de analyse van longitudinale klonale sequenties. Voor de zes onderzochte patiënten vonden we substitutieaantallen van  $2,56 \cdot 10^{-3}$  tot  $6,84 \cdot 10^{-3}$  substituties per site per jaar.

### Conclusie

Het proefschrift eindigt met de conclusie dat de virale genetische heterogeniteit, in de zin van aminozuurmutaties ten opzichte van een consensussequentie, inderdaad positief is gecorreleerd met het klaren van het virus door interferonbehandeling. Een verklaring voor dit fenomeen zou kunnen zijn dat deze mutaties het gevolg zijn van selectiedruk die wordt uitgeoefend door de gastheer, en als zodanig een *marker* vormen voor de mate van afweer die de gastheer al voor behandeling met interferon op het virus heeft uitgeoefend.

## PROMOTIES

### 13 maart 2009 - J. Hovius

Proefschrift: Tick-host-pathogen interactions in Lyme borreliosis.

Promotoren: prof. dr. T. van der Poll en prof. dr. P. Speelman.  
Copromotoren: dr. A.P. van Dam en prof. dr. E. Fikrig. AMC Amsterdam, afdeling Inwendige Geneeskunde.

### 15 april 2009 - L. van Leeuwen

Proefschrift: Male reproduction and HIV-1 infection.

Promotoren: prof. dr. F. van der Veen en prof. dr. P. Reiss.  
Copromotoren: prof. dr. J.M. Prins en dr. S. Repping. AMC Amsterdam, afdeling Verloskunde en Inwendige geneeskunde.

### 28 april 2009 - K. Strijbis

Proefschrift: Compartmentalization of metabolic pathways in *Candida albicans*: a matter of transport.

Promotor: prof. dr. J.M.F.G. Aerts. Copromotor: dr. B. Distel. AMC Amsterdam, afdeling Inwendige geneeskunde.

### 24 juni 2009 - R. van Houdt

Proefschrift: Molecular epidemiology of hepatitis B in the Netherlands.

Promotor: prof. dr. R.A. Coutinho. Copromotor: dr. S. Bruisten. AMC/GGD Amsterdam.

### 26 juni 2009 - C. van den Berg

Proefschrift: Hepatitis C virus, Epidemiology and Immunology.

Promotor: prof. dr. R.A. Coutinho. Copromotor: dr. M. Prins. AMC/GGD Amsterdam.

### 3 september 2009 - D. Bezemer

Proefschrift: Impact of antiretroviral therapy on HIV-1 transmission dynamics.

Promotoren: prof. dr. R.A. Coutinho en prof. dr. M. Sabelis. Copromotor: dr. M. Prins. AMC/GGD Amsterdam.

## PERSONALIA

### **Nieuwe leden (sinds december 2008)**

- Mw. drs. E.G.W. Huijskens, Anna Paulownahof 196, 5038 VZ Tilburg
- Mw. dr. J.A. De Valk-Van Haren, Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, afdeling Medische Microbiologie, Weg door Jonkerbos 100, 6532 SZ Nijmegen
- Dr. T.A. Schuurs, Laboratorium voor de Volksgezondheid in Friesland, Postbus 21020, 8900 JA Leeuwarden
- Mw. M. van Gent, RIVM, afdeling LIS, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven
- Mw. K.E.M. Elberse, RIVM, afdeling LIS, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven
- Mw. Y.K. Veenstra-Kyuchukova, Universitair Medisch Centrum Groningen, afdeling Medische Microbiologie, Postbus 30001, 9700 RB Groningen
- I.O. Lede, Beemsterstraat 438, 1024 BR Amsterdam
- Mw. M. Kolader, Berberisstraat 37-1, 1032 EK Amsterdam
- Mw. M.D. Nipshagen, Troubadour 150, 1188 DB Amstelveen
- Mw. dr. D. Bogaert, UMC Utrecht, afdeling Kindergeneeskunde (room KC.03.069.1) Lundlaan 6, 3584 EA Utrecht
- M.B. Haeseker, Heerlerweg 24, 6367 AE Voerendaal
- Mw. M.I.A. Rijnders, Caumerweg 44, 6418 BC Heerlen
- Mw. dr. M. Oostra, Gelre Ziekenhuizen, afdeling Medische Microbiologie, Postbus 9014, 7300 DS Apeldoorn
- F.J.E.T. Raaijmakers, Orange Medical, Charles Stulemeijerweg 15, 5026 RS Tilburg
- J.J.A. van Kampen, Statenweg 111 A, 3039 HJ Rotterdam
- J.W.M. van der Linden, UMC St Radboud, afdeling Medische Microbiologie, 514, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen
- Mw. dr. A.A.T.P. Brink, MUMC, afdeling Medische Microbiologie, Postbus 5800, 6202 AZ Maastricht
- H.F.J. Thiesbrumme, IJburglaan 1532, 1087 MA Amsterdam
- R. van Houdt, Transvaalstraat 32 B, 1092 HL Amsterdam
- Dr. R.A.G. Huis in 't Veld, Academisch Medisch Centrum, afdeling Medische Microbiologie, Meibergdreef 9, 1105 AZ Amsterdam
- Mw. E. de Jong, UMC St Radboud, afdeling Medische Microbiologie, MMB 574, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen
- Dr. A. Paauw, Mauritiussstraat 42, 1339 RJ Almere
- Mw. H.L. Lee, Universitair Medisch Centrum Groningen, afdeling Medische Microbiologie, Postbus 30001, 9700 RB Groningen
- Mw. A.L.M. Vlek, UMC Utrecht, Eijkman-Winkler Instituut, Go4.614, Heidelberglaan 100, 3584 CX Utrecht
- Dr. J.H.B. van de Bovenkamp, Stichting PAMM, Postbus 2, 5500 AA Veldhoven
- H.F. Wunderink, Waterleliëkreek 14, 2353 JJ Leiderdorp

### **Adreswijziging**

- Mw. M.C.A. Wegdam-Blans, Stichting PAMM, afdeling Medische Microbiologie, Postbus 2, 5500 AA Veldhoven
- Mw. dr. P.C.R. Godschalk, Meander Medisch Centrum, afdeling Medische Microbiologie, Utrechtseweg 160, 3818 ES Amersfoort (voorheen Erasmus MC te Rotterdam)
- R.P.H. Peters, MD PhD, University of the Witwatersrand, Khutso Kurhula Offices / PHRU, P.O. Box 2243, 0850 Tzaneen, South Africa, (voorheen VUmc te Amsterdam)
- Mw. S. Kuipers, afdeling Medische Microbiologie, route 574, UMC St Radboud, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen (voorheen Delft)
- Mw. E. Kraan, Star-MDC, Vlambloem 21, 3068 JE Rotterdam (voorheen Raamstraat 137, Delft)
- R.P. Schade, VUmc, afdeling Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Postbus 7057, 1007 MB Amsterdam (voorheen UMC St Radboud te Nijmegen)
- Prof. dr. E.J.H.J. Wiertz, UMC Utrecht, Eijkman-Winkler Instituut Go4.614, Heidelberglaan 100, 584 CX Utrecht (voorheen Mauritsstraat 106, Utrecht)
- Mw. A.J. Buss, Laboratorium voor Infectieziekten, Van Ketwich Verschuurlaan 92, 9721 SW Groningen (voorheen UMCG Groningen)
- D. Kwa, Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, afdeling Medische Microbiologie, 1e Oosterparkstraat 179 1091 HA Amsterdam (voorheen Reina Prins Geerligsdreef 7, Hoofddorp)

## AGENDA

### 2009

4 september 2009

**Ubiquitin function in health and disease**

UMCU, Utrecht

Inlichtingen en aanmelden: [www.cmc-utrecht.nl/symposium/symposium.html](http://www.cmc-utrecht.nl/symposium/symposium.html)

6-10 september 2009

**6<sup>th</sup> European Congress on Tropical Medicine and International Health**

Verona, Italië

E-mail: [ectmih2009@kit-group.org](mailto:ectmih2009@kit-group.org),

<http://www.festmih.org/verona2009>

7 september 2009

**8<sup>e</sup> Gezamenlijke Bijeenkomst van de Werkgroepen Oost-West**

St. Antonius Ziekenhuis, Nieuwegein, aanvang 14.00 uur

Informatie: T. Schulín, tel. 024 3614356, R.W. Vreede, tel. 015 2604305

27-30 september 2009

**European Society for Clinical Virology (ESCV)**

Istanbul, Turkije

Informatie: <http://www.escv2009.org/>,

e-mail: [gulden.yilmaz@yeditepe.edu.tr](mailto:gulden.yilmaz@yeditepe.edu.tr)

30 september-1 oktober 2009

**European Medical Waste Conference**

Amsterdam RAI. Eurocongress International

Informatie: tel. 020 6793411, [www.emwc-web.org](http://www.emwc-web.org), e-mail: [emwc2009@eurocongress.com](mailto:emwc2009@eurocongress.com)

14 oktober 2009

**Challenges in clinical virology, in honour of Jurjen Schirm**

Groningen

Informatie: [info@congresscare.com](mailto:info@congresscare.com)

18-21 oktober 2009

**4<sup>th</sup> Trends in Medical Mycology**

Athene, Griekenland

Informatie: [info@congresscare.com](mailto:info@congresscare.com),

<http://www.TIMM2009.org>

10 november 2009

**Prior (Poverty Related Infection Oriented Research) Congress "Brothers in Arms"**

UMC St Radboud, Nijmegen

Informatie: R. Sauerwein, e-mail: [prior@congres.net](mailto:prior@congres.net)

11 november 2009

**Bijeenkomst van de Werkgroep West, medische microbiologie**

Aanvang 14.00 uur

Informatie: R.W. Vreede, tel. 015 2604305,

e-mail: [vreede@rdgg.nl](mailto:vreede@rdgg.nl)

18-22 november 2009

**6<sup>th</sup> World Congress of the World Society for Paediatric Infectious Diseases**

Buenos Aires, Argentinië

Informatie: [www.kenes.com/wspid](http://www.kenes.com/wspid), [www.wspid.com](http://www.wspid.com)

19-20 november 2009

**Infectiedagen**

De Reehorst, Ede

Informatie: [www.nvic.nl](http://www.nvic.nl)

25 november 2009

**Bijeenkomst van de Werkgroep West, medische microbiologie**

Aanvang 14.00 uur

Informatie: R.W. Vreede, tel. 015 2604305

3 december 2009

**Infectieziekten Symposium Amsterdam (XIV)**

Academisch Medisch Centrum, Amsterdam

Informatie: Nicolaes Tulp Instituut, tel. 020 5668585,

fax 020 6963228, e-mail: [infectieziekten@amc.nl](mailto:infectieziekten@amc.nl)

7 december 2009

**324<sup>e</sup> Bijeenkomst van de Werkgroep Oost, medische microbiologie**

Huize Heyendaal, Nijmegen, aanvang 14.30 uur

Informatie: T. Schulín, tel. 024 3614356

### 2010

10-13 april 2010

**20<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**

Wenen, Oostenrijk. Informatie: 20<sup>th</sup> ECCMID 2010, c/o AKM

Congress Service, P.O. Box, CH-4005 Basel, Zwitserland,

e-mail: [info@esccmid.org](mailto:info@esccmid.org), [info@akm.ch](mailto:info@akm.ch),

<http://www.eccmid-icc.org>,

<http://www.esccmid.org/eccmid2010>

**INDEX ZESTIENDE JAARGANG**

<b>Auteur</b>	<b>Pagina</b>				
		Verweij P.E.	III-30	labinf@act	II-16
Beisser P.S.	II-19	Vink C.	I-28	Lucky Bamboo	I-7
Benschop K.S.M.	IV-8	Vlaspolder F.	III-17, IV-24	MLST	II-19
Berg H.H.J.L. van den	III-26	Vries E. van der	IV-19	MRSA-infectie	I-31, II-19
Besselink R.	III-20	Weers-Pothoff G.	III-20	mutaties	I-35
Bijlmer H.A.	II-11	Wensing A.M.J.	I-35	myasis	II-29
Boucher C.A.B.	IV-19	Wolthers K.C.	IV-8	neonatale sepsis	IV-8
Boer M. de	I-20	Zanden A.G.M. van der	III-17	netwerk	II-16
Buijtels P.	I-33			non-tuberculeuze mycobacteriën	
Cohen Stuart J.	II-23	<b>Trefwoord NTMM</b>	<b>Pagina</b>	(NTM)	I-33
Curfs-Beuker I.	I-12	algoritme	II-11	NVMM-richtlijn 2006	III-17
Demeulemeester A.A.	III-26	antibioticaresistentie	III-10	OGZ-diagnostiek	II-11
Dijk E. van	III-26	A(H1N1)-influenzavirus	IV-19	OGZ-driehoek	II-8
Dofferhoff A.S.M.	I-20	Aziatische tijgermug	I-7	oogheelkunde	II-29
Duijnhoven Y.T.H.P. van	IV-12	BSL3-condities	III-17	oseltamivirresistentie	IV-19
Emonts M.	IV-35	CA-MRSA	I-31	Panton-Valentine leukocidine	
Friesema I.H.M.	IV-12	candida-infectie	I-12	(PVL)	I-31
Götz H.M.	II-11	CIB	II-16	parasiet	II-29
Groot C.A.R.	III-20	clostridium septicum	I-20	PFGE	II-19
Herremans M.M.P.T.	I-7	COM	II-16	PVLE	II-19
Hooijdonk H.J.P. van	III-26	communicatie	II-16	Q-koorts	III-20
Horrevorts A.M.	III-20	coloncarcinoom	I-20	recreatiewater	III-26
Illnait-Zaragozi M.T.	I-12	Coxiella burnetii	III-20	regionale structuur	II-8
Jager M.M.	I-7	Cryptococcus neoformans	III-30	resistentie	I-35
Jonges M.	IV-19	cutane nodulus	III-30	richtlijn	II-23
Koopmans M.P.G.	I-7, II-11, IV-12	dengue	I-7	samenwerking	II-8
Kortbeek L.M.	IV-12	detectie	II-23	serologie	I-7
Kullberg B.J.	III-30	diagnostiek	IV-8	SCCmec	II-19
Kusters-van Someren	I-31	disk-diffusietestmethode	I-12	spa-typing	II-19
Leverstein-van Hall M.	II-23, III-10	endocarditis	III-20	sputumuitstrijk	I-33
Marcelis J.	I-16	Enterobacteriaceae	II-23	test of cure	IV-24
Meijer A.	IV-19	enzymimmunoassays (EIA)	IV-24	therapieresistente hiv-stammen	I-35
Meis J.F.G.M.	I-12, I-20	epidemie	III-20	transmissie	I-35
Missotten G.S.	II-29	ESBL-werkgroep	II-23	tbc-diagnostiek	III-17
Muilwijk J.	IV-12	Extended-spectrum		tripelfecestest	IV-24
Mulder B.	III-17	betalactamases (ESBL's)	II-23	tuberculose (TB)	I-33
Nabuurs-Franssen M.H.	III-20	Euregio Maas-Rijn	II-19	variconazolgevoeligheid	I-12
Naiemi al N.	II-23	fecesdiagnostiek	IV-12	Vibrio alginolyticus	III-26
Notermans D.W.	IV-20	fluconazolgevoeligheid	I-12	wondinfecties	III-26
Oude Lashof A.M.L.	III-30	genetische polymorfismen	IV-35	ziekenhuizen	IV-12
Peters B.	III-30	Giardia lamblia	IV-24		
Reimerink J.H.J.	I-7	gastro-enteritis	IV-12		
Reusken C.	I-7	gedissemineerde cryptokokkose	III-30		
Roda Husman A.M. de	III-26	gistisolaten, klinische	I-12		
Rutjes S.A.	III-26	huisartsen	IV-12		
Sande-Bruinsma N. van de	III-10	humane enterovirussen	IV-8		
Schade R.P.	III-30	humane parechovirussen	IV-8		
Schets F.M.	III-26	immuunresponsogenen	IV-35		
Schneeberger P.M.	II-8, II-16, III-20	Infectieziekten Surveillance			
Singer P.	IV-24	Informatie Systeem (ISIS)	III-10		
Stobberingh E.E.	I-28, II-19	influenzavirusinfecties	IV-19		
Verduyn Lunel F.M.	I-12	ISIS-MML	IV-12		

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

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

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

Door het inzenden van kopij verklaart de auteur:

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

Het manuscript is als volgt ingedeeld:

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

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

### Oorspronkelijk onderzoeks- en overzichtsartikel

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

### Casuïstiek

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

### Van de voorzitter

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

### Ingezonden

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

### Samenvatting proefschrift

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

### Literatuur

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

### Voorbeeld:

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

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

### Medicamenten of farmaca

Medicamenten of farmaca worden alleen met generische naam vermeld.

### Nomenclatuur

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

### Tabellen en figuren

Geïllustreerde manuscripten vergroten de leesbaarheid. Tabellen en/of figuren dienen op een apart vel te worden aangeleverd, of digitaal in de vorm van een .jpg-, .jpeg-, .tif- of .bmp-bestand van een hoge resolutie. Figuren dienen vakkundig te zijn vervaardigd. De afbeeldingen moeten zo veel mogelijk contrasterend zijn. Lever bij de figuren en foto's gaarne de onderschriften aan het eind van het document.

Foto's dienen als glanzende zwart/wit-foto's te worden ingezonden, verpakt in karton. Aan de achterkant van uw illustratiemateriaal 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.**

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

### Inzenden manuscript

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

### Redactiesecretariaat

Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie  
Postbus 2122, 2400 CC Alphen aan den Rijn, tel. 0172-476 191,  
fax. 0172-471 882, e-mail: [ntmm@zuidencomm.nl](mailto:ntmm@zuidencomm.nl)