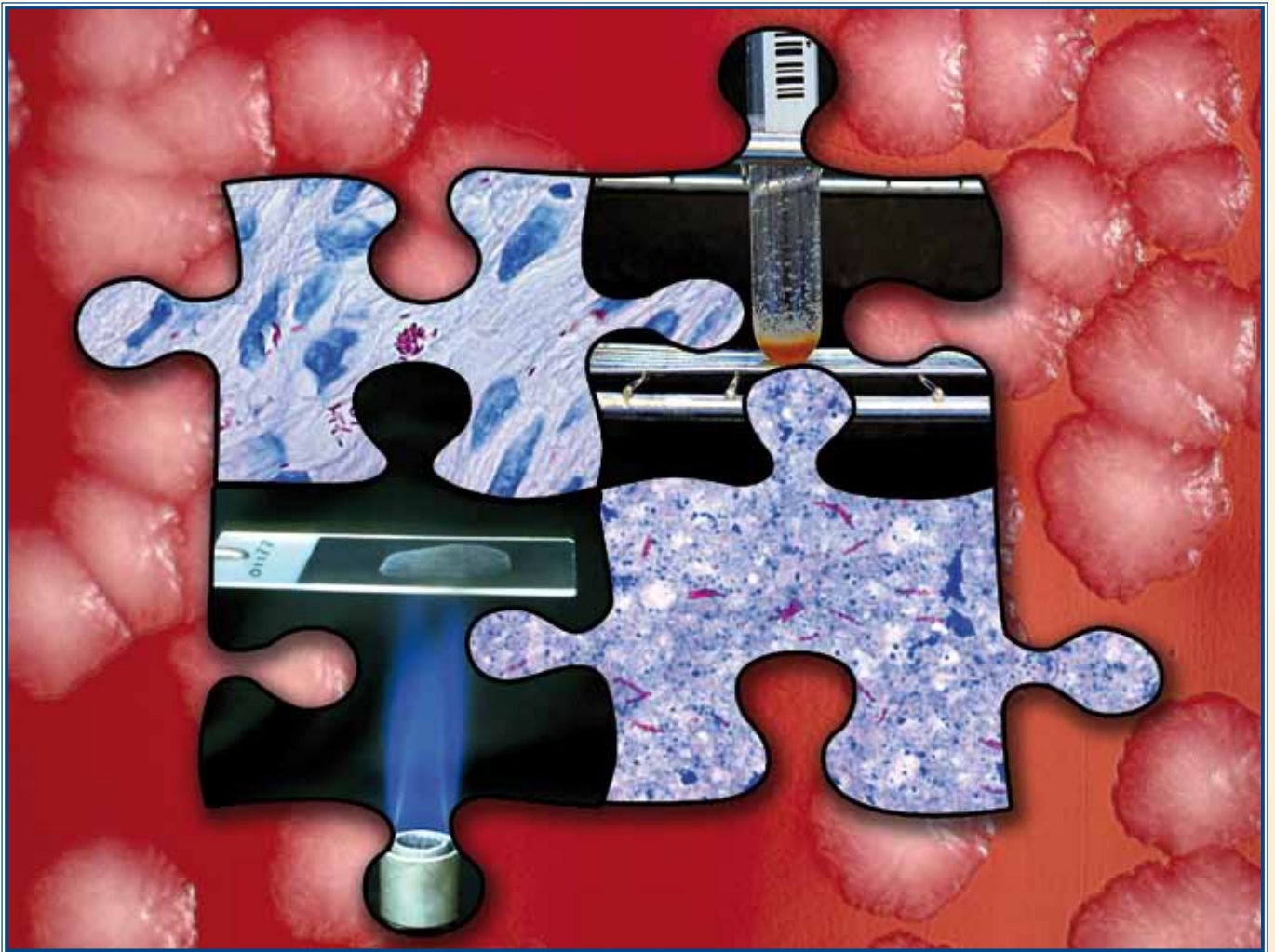


NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR
MEDISCHE MICROBIOLOGIE



Capaciteitsonderzoek medisch-microbiologische analisten

•
Laboratoriumdiagnostiek van tuberculose in Nederland

•
Twee patiënten met tuberculeuze meningitis

•
WIMM: internationaal samenwerken in de Medische Microbiologie

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. E. Boel, dr. A. Fleer,
mw. dr. E. Heikens, mw. T. Herremans,
mw. drs. M. Jager, dr. J.A. Kaan,
dr. J.S. Kalpoe, dr. J.F.G.M. Meis,
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.

© 2010, Van Zuiden Communications B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vervaardigd, 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	5
Groeten uit Vietnam <i>H.F.L. Wertheim</i>	6
Transmissieroute <i>B.J.M. Vlaminckx</i>	7
Artikelen	
Capaciteitsonderzoek onder medisch-microbiologische analisten <i>R.H. Hendrix, G.A. Kampinga, J.A. Kaan</i>	8
Laboratoriumdiagnostiek van tuberculose in Nederland <i>F. Vlaspolder</i>	12
Casus	
Twee patiënten met tuberculeuze meningitis <i>A. van Laarhoven, J.A. Kaan, H.M. Schippers, H.J. Mager, D. van Soolingen, M.F.G. van der Meulen</i>	18
Ervaringen in het buitenland	
WIMM: internationaal samenwerken in de Medische Microbiologie <i>E.C. Bowles</i>	22
CBG	
Oude pillen, nieuw gebruik? (Hydroxy)chloroquine in de behandeling van chronische Q-koorts <i>L. Wijnans, S. Simonian</i>	24
Column	
Q-koorts versus de media <i>P.C. Wever</i>	26
Congresnieuws	
Verslag ECCMID 2010 <i>E. Heikens</i>	27
Verenigingsnieuws	
Medische microbiologie in de toekomst <i>M. Kolader, A.K. van der Bij, J. Hopman, S.Q. van Veen</i>	31
Oratie van prof. dr. P.W.M. Hermans	33
Personalial/agenda/promoties	41

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

Linksboven: *Mycobacterium leprae*, Kinyoun, biopt knie

Rechtsboven: *Mycobacterium tuberculosis*, Mgit-buis positief

Linksonder: *Mycobacterium tuberculosis*, preparaat fixeren

Rechtsonder: *Mycobacterium tuberculosis*, Kinyoun

Achtergrond: *Mycobacterium fortuitum*, bloedagar na drie dagen

Klinkklare...

Het is al weer bijna vakantie. Gek is dat: ieder jaar schrijf ik het hoofdredactioneel in het nummer 2 (het 'vakantienummer'). En ieder jaar gebruik ik dat hoofdredactioneel om al stiekem weg te dromen naar de vakantie. Dit jaar is het echter anders. Al was het maar omdat er op dit moment meteorologisch nog niet aan vakantie te denken valt: het plenst. Daarnaast voel ik de spanning in mijn medische staf oplopen nu steeds meer collegae gaan beseffen wat de jongste plannen van onze minister voor de 'vrijgevestigde' specialisten gaan betekenen. Als stafvoorzitter ben ik er maar druk mee: iedereen wil weten wat de gevolgen zullen zijn, of probeert mij en zichzelf in slaap te sussen met een opmerking als "dat het al 30 jaar zo gaat en het uiteindelijk altijd meeviel in die 30 jaar".

Toch is het dit keer anders. Onlangs heb ik contact gezocht met Milco Linsen, oprichter van "bezorgd.org", een stichting die zich inzet voor het verbeteren van het imago van de medisch specialist en daarnaast via juridische procedures iets wil doen tegen de rampspoed die ons reeds getroffen heeft en ons nog te wachten staat. Hij kwam onze staf uitleggen waar zijn organisatie voor wil knokken en de aanwezige specialisten werden ruw wakker geschud. Het door de minister aangekondigde budgetsysteem staat garant voor veel strijd tussen maatschappen en directies en maatschappen onderling. Verdeel-en-heers is het adagium van onze Haagse goeroe die de medisch specialist inmiddels vakkundig als verkwister heeft neergezet, maar zelf nog even 200 tot 300 miljoen euro af mag schrijven op H1N1-vaccins... Ach, u bent niet vrijgevestigd maar in loondienst? U zal dit niet treffen en het is goed dat er eindelijk iets wordt gedaan aan de 'graaiers' in de vrije praktijk? Dan zit u op dezelfde lijn als mijn '30-jaar'-collega's: lees de voorhang van onze minister van begin dit jaar en u zult zien dat hij ook naar u op jacht is.

De verkiezingsprogramma's stemmen ook al niet tot veel vrolijkheid. Over de hele linie, van links tot rechts, mag de

zorg opdraaien voor de crisis. Job wil iedere specialist in loondienst dwingen, Mark wil de patiënt (en kiezer) meer laten betalen. Geert wil snoetjes op de O.K. gaan verbieden (want lijkt op burka). Dat we in Nederland inmiddels de beste gezondheidszorg ter wereld hebben, neemt iedereen voor lief. Het kan altijd beter (en goedkoper)! Het is soms net alsof de kwaliteit van de zorg eerder ondanks dan dankzij de medisch specialist tot stand is gekomen. Er komt nu zelfs een heus kwaliteitsinstituut voor de Zorg! Tegen de tijd dat u dit leest, zullen de verkiezingen voorbij zijn. Ik gok op een CDA-VVD-kabinet, aangevuld met wie er op dat moment net genoeg stemmen heeft om een meerderheid te halen (PVV of D66, gok ik). Wie er ook wint, de zorg verliest.

Tjee...dit is wel een heel droevig stukje aan het worden. U moet het me maar vergeven: het aankondigen van de in dit nummer gepubliceerde artikelen vind ik vrij zinloos. Daarvoor hebben we immers een inhoudsopgave. Maar datgene wat ons bedreigt deel ik graag met u. Overigens evenals de kansen, die bij iedere bedreiging horen. Misschien gaan we de komende jaren dan eindelijk de megalaboratoria zien waarvan we de afgelopen 10 tot 20 jaar zoveel hebben gehoord. Misschien dwingen de budgettaire maatregelen ziekenhuizen er wel toe nu eindelijk eens de laboratoria af te stoten? Op een aantal plaatsen in ons land is het reeds zo ver. Zonder dat ik er tot nu toe positieve ervaringen over heb gehoord, overigens. In een komend nummer komen Jan Kaan en ik hier nog op terug.

Rest mij eigenlijk weinig anders dan u veel leesplezier met dit nummer van het NTMM toe te wensen. En een fijne vakantie, vol zon en ontspanning. Opdat wij er in augustus weer fris tegen aan kunnen.

*Michiel van Rijn,
hoofdredacteur*

Trek maar aan het touwtje, dan...

H.F.L. Wertheim

In Vietnam is eind april een tijd van feesten, vrije dagen en spelletjes vanwege *Liberation Day* en *Labor Day*. Zo vond er in ons ziekenhuis een hele week een competitie plaats met verschillende sporten waaronder badminton, pingpong, karaoke (dit is een nationale volkssport), schaken en touwtrekken. Voor het touwtrekken was ik wel in, dus ik deed mee met het laboratoriumteam. Met veel rumoer van toeschouwers die trommelen op potten en pannen, uitbundig juichen en springen, werden we opgejut om flink te trekken aan dat touw. Het laboratoriumteam was erg fanatiek en we zijn uiteindelijk zelfs eerste geworden. Ik kreeg de eer om de prijs namens het lab in ontvangst te nemen. Onze overwinning werd dezelfde avond gevierd met een groot buffet en voldoende wodka. Het doel heiligt de middelen, want met dit soort *team building* in Vietnam krijg je weer heel veel dingen ineens makkelijker en sneller gedaan.

Ik werk nu alweer drieënhalf jaar in Vietnam. In de eerste paar maanden in Vietnam wist ik niet goed hoe ik het beste kon samenwerken met het lokale laboratoriumpersoneel. Je bent te gast in een ziekenhuis waar je gebruikmaakt van de lokale faciliteiten en personeel en je kent de gebruiken nog niet goed. Terugkijkend denk ik dat ik in het begin te serieus te werk ging en verliep daarom het samenwerken stroef. Pas na een paar karaokesessies, bier en grappen uithalen, merkte ik dat ik makkelijker dingen gedaan kon krijgen. Voor hen word je dan meer een deel

van de groep omdat je meedoet. Hoewel ik altijd de buitenlander zal blijven die fondsen helpt binnenbrengen, is er toch een wel een soort wij-gevoel ontstaan. Op een leuke manier ontstaan nu samenwerkingsprojecten die nu ook deels door de lokale staf worden opgezet en uitgevoerd.

Ook tijdens een 'hei-dag' van onze unit werd door enkele Vietnamese stafleden benadrukt hoe belangrijk het is dat de buitenlanders met lokale sociale evenementen meedoen. Maar er moet natuurlijk ook worden gewerkt en een goede wetenschappelijke output is nodig voor ons voortbestaan. We zijn in drie jaar tijd gegroeid van zeven stafleden in vaste dienst naar 22 en nog vele medewerkers extra op projectbasis. Het aantal buitenlanders is echter gelijk gebleven, namelijk drie. Om te kunnen blijven groeien is het nu van belang dat de lokale staf meer projectverantwoordelijkheid krijgt. Dus niet meer taakjes uitvoeren, maar een project van begin tot eind leiden. Dat zal niet zo 1-2-3 gaan omdat het Vietnamese onderwijssysteem 'zelfstandig nadenken' niet echt meegeeft. Maar we hopen het komende jaar een middenlaag te creëren binnen onze unit. We zullen zien...

Ook deze rubriek zal een cultuuromslag doormaken. Vanaf heden zal deze rubriek worden ingevuld door verschillende Nederlandse artsen-microbioloog die in het buitenland actief zijn. We hopen u zo een nog veelzijdigere berichtgeving van verre te kunnen geven. Deze rubriek zal dan ook worden hernoemd van 'Groeten uit Vietnam' tot 'Groeten van Ver'. De volgende columnist is Hubert Endtz uit Bangladesh, waar hij werkzaam is voor ICDDR, B. Ik heb deze column de afgelopen jaren met plezier ingevuld en ik kijk uit naar de berichtgeving van collega's van verre.

Fanatiek touwtrekken



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.

Blinde vlek

B.J.M. Vlaminckx

In de voorgaande rubriek 'Transmissieroute' schreef collega Hans Kusters dat beeldvorming over de medische microbiologie problematisch is. Dat is iets waarin onze beroepsgroep ten opzichte van andere medisch-ondersteunende specialismen alleen staat: reeds in het eerste jaar worden medische studenten geschoold in het bekijken van histologische coupes en ook de beoordeling van röntgenfoto's en CT- en MRI-afbeeldingen wordt vroeg in het medische curriculum geïntroduceerd en spreekt zeer tot de verbeelding. Ons vak levert geen mooie plaatjes en met de komst van 'black-box'-apparatuur voor PCR's, geautomatiseerde resistentiebepalingen en MALDI-TOF zal dat ook niet veranderen.

Hoewel de beeldvorming over de medische microbiologie *sensu stricto* nog wel eens uitdagend kan zijn, blijkt microbiologische problematiek wel zeer tot de verbeelding te spreken: het merendeel van de berichtgeving in de media over medisch-inhoudelijke zaken was in het afgelopen jaar microbiologisch van aard: Mexicaanse griep, Q-koorts en ESBL-producerende *Enterobacteriaceae* in de veeteelt zijn slechts enkele voorbeelden. Van de nieuwe influenza weten we dat het meestal in Zuidoost-Azië ontstaat omdat mens en dier daar dicht op elkaar leven. In dat kader lijkt het ook geen toeval dat Nederland in de afgelopen drie jaar is geconfronteerd met een Q-koorts-epidemie van ongekende omvang. Kennis over zeer intensieve veeteelt is een belangrijk Nederlands exportproduct en we lijken nu te worden geconfronteerd met de microbiologische gevolgen daarvan. Het meest schokkende recente voorbeeld is het feit dat het tot kortgeleden bij niemand van onze beroepsgroep bekend was dat het noodzakelijk wordt geacht grote hoeveelheden derdegeneratiecefalosporinen aan kuikens te geven om ze in korte tijd op een zeer beperkt oppervlak zo groot mogelijk te laten worden. Het merendeel van het kippenvlees in de schappen blijkt ESBL-positief en daarmee mogelijk gerelateerd aan de stijgende ESBL-prevalenties in de Nederlandse ziekenhuizen.

Zoals het voor medici niet altijd vanzelfsprekend is om oog te hebben voor het prokaryote deel van het menselijk lichaam, zo lijkt onze beroepsgroep dus ook een blinde vlek te hebben,

namelijk voor de niet-humane microbiologie. De menselijke, veterinaire en omgevingsmicrobiologie is in werkelijkheid een continuüm, maar qua organisatie, opleiding en onderlinge communicatie lijken het gescheiden werelden.

Mogelijk biedt het nieuwgeschreven opleidingsplan voor de arts-microbioloog een ingang. In het document 'herziening opleiding medische microbiologie' (HOMM) staat vastgelegd dat in de opleiding minimaal twee maanden dienen te worden besteed aan *public health*. Wellicht zou dit een stage kunnen worden die veterinair microbiologen, voedsel- en watermicrobiologen en arts-microbiologen gezamenlijk doorlopen. Zo zou bij deze opleidingen een gemeenschappelijk deel kunnen worden geïntroduceerd. Dit zou moeten leiden tot uitwisseling van ideeën en stagebezoeken in elkaars keuken. Die keukens zijn vanuit het perspectief van de microbe toch een en dezelfde. Een gedeelde vakinhoudelijke insteek draagt bij aan wederzijds begrip en opinievorming over *public health* in de microbiologie voor alle betrokken sectoren.

Onze verhouding tot de infectieziekten werd door Joshua Lederberg omschreven als *our wits versus their genes*. Met de introductie van massasequencingtechnologieën weten we nu ongeveer wat de capaciteit van 'their genes' is. In maart 2010 stond in *Nature* dat het metagenoom van de enterale flora van een individu bestaat uit ongeveer drieënhalf miljoen unieke genen. Dat zijn 150 maal meer genen dan die van de gastheer. Om de balans met *their genes* goed te houden, moeten we het dus van onze *wits* hebben. In dat kader zou het jammer zijn als er veel energie verloren gaat door gebrekkige communicatie tussen de mensen die verantwoordelijk zijn voor het microbieel rentmeesterschap in de betrokken sectoren. Wellicht zou het Centrum voor infectieziektebestrijding (CIb) hierin een faciliterende rol kunnen spelen.

De Transmissieroute voert naar Peter Schneeberger, arts-microbioloog in het Jeroen Bosch Ziekenhuis te Den Bosch.

Correspondentieadres: Dr. B.J.M. Vlaminckx, arts-microbioloog, Afd. Medische Microbiologie en Immunologie, St. Antonius Ziekenhuis, Postbus 2500, 3430 EM Nieuwegein, e-mail: b.vlaminckx@antoniushuis.net.

Capaciteitsonderzoek onder medisch-microbiologische analisten

R.H. Hendrix, G.A. Kampinga, J.A. Kaan

Samenvatting

In maart 2009 is vanuit de Commissie Laboratoriumonderwijs een enquête gehouden onder de medisch-microbiologische laboratoria in Nederland om na te gaan hoe de behoefte is aan analytisch personeel. Het doel was een indruk te krijgen van de formatie en het aantal vacatures om daarmee over een regionale en landelijke raming te beschikken: is of dreigt er een tekort aan analytisch personeel, mogelijk als gevolg van demografische maar ook technologische veranderingen. Ondanks de niet volledige respons op de enquête is de voorlopige conclusie dat het aantal moeilijk te vervullen vacatures vergeleken met eerdergehouden vergelijkbare enquêtes niet zorgwekkend is, maar dat alertheid voor dit onderwerp gezien de ontwikkelingen in het vakgebied, aangewezen is.

Trefwoorden: capaciteitsonderzoek, medisch-microbiologisch analist

Inleiding

Eén van de kerntaken van de arts-microbioloog is het beheer van het laboratorium. De belangrijkste component in dat laboratorium is de groep medewerkers: de kwaliteit van hun opleiding, de beschikbaarheid ter vervulling van de vacatures voor analisten, ook op termijn. Door veranderingen in de demografie in Nederland, maar ook door veranderde positionering en werkwijze van de medisch-microbiologische laboratoria ontstond enige jaren geleden behoefte aan inzicht in de beschikbaarheid van medisch-microbiologisch analisten (MMA) in de verschillende regio's. In contacten met de HBO-opleidingen lokaal en landelijk¹ maar ook met belangenorganisaties (Nederlandse Vereniging voor Ziekenhuizen, NVZ) en de overheid is het gewenst in maat en getal uit te kunnen drukken waar mogelijke tekorten bestaan. Maar het grootste belang om een indruk te hebben van de arbeidsmarkt ligt bij de artsen-microbioloog.

Eerder onderzoek

In het verleden zijn twee omvangrijke onderzoeken gedaan door de NVZ.^{2,3} Nu het laatste onderzoek 12 jaar

oud is en uit contacten met de NVZ bleek dat er wel bereidheid maar geen mogelijkheid tot herhaling van een dergelijk onderzoek bleek te zijn, heeft de Commissie Laboratoriumonderwijs besloten in eigen beheer een enquête te houden onder de leden van de NVMM. Het NVMM-bestuur zegde volledige ondersteuning en medewerking toe.⁴

Doelen van het onderzoek

De doelen van het onderzoek zijn:

1. het verkrijgen van inzicht in het landelijke profiel en in de formatie van medisch-microbiologische analisten (MMA's) in 2008;
2. het verzamelen van kengetallen over het aantal vacatures uitgedrukt in fte voor MMA's in 2008;
3. het verwerven van regionale en landelijke ramingen van het aantal vacatures in fte voor MMA's.

In maart 2009 zijn alle laboratoria benaderd met een e-mail waarin het verzoek om per laboratorium één vragenlijst te beantwoorden. Als laboratorium was gedefinieerd een zelfstandigwerkend laboratorium met een eigen vaste groep analisten. De gevraagde informatie heeft betrekking op 1 juni 2008. Er werden gedetailleerde gegevens gevraagd, maar toch is geprobeerd de respondenten niet zwaar te belasten. Een indruk van de situatie waarbij wel de doelen werden bereikt, moest volstaan. Door de beschreven beperkingen zijn de resultaten niet rechtstreeks te vergelijken met de bovengenoemde onderzoeken van de NVZ. Deze onderzoeken hadden betrekking op zowel de medische microbiologie als op andere laboratoriumvakken. Bovendien gingen

R.H. Hendrix, arts-microbioloog, Laboratorium voor Medische Microbiologie Twente en de Gelderse Achterhoek, G.A. Kampinga, arts-microbioloog, Universitair Medisch Centrum Groningen. Correspondentieadres: J.A. Kaan, arts-microbioloog, Laboratorium Medische Microbiologie en Immunologie, Diaconessenhuis Utrecht, e-mail: jkaan@diakhuis.nl.

deze onderzoeken anders dan het voorliggende, in op de te verwachten demografische ontwikkelingen aan de hand van gegevens van het Centraal Bureau voor de Statistiek.

Resultaten

Het aantal laboratoria, gedefinieerd als zelfstandigwerkende laboratoria met een eigen vaste groep analisten is niet exact bekend. Het wordt geschat op 79 op basis van de gegevens beschikbaar bij het NVMM-secretariaat, waarbij een academisch centrum als één laboratorium is gerekend. Van vier academische centra zijn echter gescheiden enquêtes ontvangen voor de afdeling virologie en/of bacteriologie. Deze zijn voor de analyse apart geteld. Het aantal te verwachten enquêtes bedroeg daarom minimaal 83. Van 45 laboratoria werd de lijst ingevuld, zodat het responspercentage 57 procent bedraagt. Soms werden niet alle vragen ingevuld - samenhangend met de open vraagstelling - reden waarom de totalen kunnen verschillen per vraag.

Indeling in regio's

Er is een regionale indeling gehanteerd in vier regio's. Het responspercentage per regio varieerde van 43 (west) tot 100 procent (noord).

De formatie

De formatie bedraagt voor de 47 laboratoria waarvandaan gegevens werden ontvangen, 1077 *fulltime equivalent* (fte) die door 1288 medewerkers worden geleverd. De omvang van de formatie per laboratorium in de regio's varieert tussen 19 (noord) en 31 fte (oost). Het gemiddeld aanstellingspercentage is 84 procent. In de verschillende regio's varieert het aanstellingspercentage tussen 83 procent en 85 procent.

Man-vrouwverdeling

In Nederland is 78 procent van de medisch-microbiologisch analist (MMA) vrouw. In de regio's varieert dit tussen 68 procent (zuid) en 81 procent (west).

De leeftijdsverdeling

Er is een leeftijdsverdeling gehanteerd van jonger dan 25, 25-29, 30-34, 35-44, 45-54 en 55 jaar en ouder. De gemiddelde leeftijd van vrouwen is 38 jaar. In de regio varieert dat van 36 (oost) tot 40 (noord). Voor mannen geldt een gemiddelde leeftijd van 42 jaar. Deze leeftijd varieert tussen 39 (west) en 44 (zuid).

Opleidingsniveau MMA's

In Nederland is 89,2 procent van de MMA's HLO-opgeleid, de overige hebben een MLO-opleiding. In noord is het HLO-opgeleide MMA's 84,6 procent en oost heeft het hoogste opleidingsniveau van 93,8 procent.

Funciedifferentiatie

Funciedifferentiatie wordt als term gehanteerd sinds de jaren negentig en er wordt mee bedoeld dat analisten op een verschillend niveau van verantwoordelijkheid kunnen functioneren en afhankelijk daarvan worden ingeschaald. Laboratoria hebben daarvoor verschillende terminologieën; zo wordt gesproken over aandachtsgebied, specieel analist, coördinatorschap, etc. Het systeem hangt samen met de vooropleiding, maar ook met de persoonlijke ambitie.

Funciedifferentiatie wordt toegepast in 23 procent van de laboratoria. Hier is een aanzienlijke spreiding van 13 procent (noord) tot 39 procent (zuid).

Behoeftes molecuairbiologische analisten

De behoefte aan molecuairbiologisch geschoolde analisten wordt gevoeld in 38 procent van de responderende laboratoria. Voor dit onderwerp is de regionale variatie 22 procent (noord) en 50 procent (oost).

De formatiebehoefte in fte die hieruit voortvloeit, is 69 voor Nederland (50 in west, zeven in noord, vier in oost, acht in zuid).

Verloop MMA's

2007, HLO

In 2007 vertrokken in Nederland 85 HLO-geschoolde medewerkers; dit komt neer op 1,8 MMA per locatie, procentueel de meeste in west, het minst in oost. Er werden 74 MMA's aangenomen, van wie 35 onervaren (opleiding korter dan een half jaar geleden afgerond of minder dan een half jaar werkervaring).

2007, MLO

In 2007 vertrokken in Nederland zes MLO-geschoolde medewerkers; dit komt neer op 0,1 MMA per locatie. Er werden 22 MMA's aangenomen, van wie zes onervaren zijn.

2008, HLO

In 2008 vertrokken in Nederland 75 HLO-geschoolde medewerkers; dit komt neer op 1,6 MMA per locatie. Er werden 114 MMA's aangenomen, van wie 29 onervaren zijn.

2008, MLO

In 2008 vertrokken in Nederland 11 MLO-geschoolde medewerkers; dit komt neer op 0,2 MMA per locatie. Er werden 28 MMA's aangenomen, van wie zeven onervaren zijn.

Vacatures

Op 1 juni 2008 waren er in Nederland 43 vacatures voor HLO-opgeleide MMA's. Vooral in de regio west is het tekort groot: 31. In noord, in oost zes en in zuid vijf.

Voor MLO-opgeleiden geldt het tekort ook vooral in west: vijf vacatures, geen in de andere regio's.

22 van de 47 laboratoria in Nederland geven op moeite te hebben met het vervullen van de vacatures voor HLO-opgeleide mensen; zoals voortvloeit uit bovenstaande geldt dat voor 11 laboratoria in west, in noord is dat drie, in oost vier en in zuid vier. Er zijn 10 laboratoria die 'niet van toepassing' antwoorden op de vraag of er moeite wordt ondervonden bij het vervullen van HLO-vacatures.

Vier van de 47 laboratoria in Nederland geven op moeite te hebben met het vervullen van de vacatures voor MLO-opgeleide mensen. Ook voor MLO geldt dat vooral voor laboratoria in west, namelijk drie. Het vierde laboratorium bevindt zich in zuid.

Er zijn 29 laboratoria die 'niet van toepassing' melden in dit verband, van negen respondenten geen resultaat. Als reden voor de niet-vervulbaarheid van de vacature wordt vermeld:

HLO	TOTAAL	WEST	NOORD	OOST	ZUID
Weinig sollicitanten	19	10	3	3	3
Kennisniveau	13	5	0	3	5
Vaardigheden	10	5	0	1	4

Stagiaires

Vijfendertig van de 44 responderende laboratoria (80 procent) hebben regelmatig HLO-stagiaires in het derde of vierde jaar van de opleiding op de afdeling. Het gaat vooral om de regio west: alle 17 van de 17 respondenten. Bovendien verlenen 11 laboratoria gastvrijheid aan stagiaires in het eerste of tweede jaar van de opleiding (oriëntatiefase).

Voor de MLO-stagiaires gelden lagere percentages: 34 tot 61 procent.

Als redenen voor het niet aannemen van stagiaires wordt genoemd:

- de vestiging is te klein;
- geen financiële middelen;
- irregulair aanbod;
- onvoldoende mankracht voor begeleiding;
- geen MLO-functies.

Duale variant

Veertig laboratoria spreken zich uit voor het aannemen van stagiaires die worden opgeleid in de duale variant (terugkomdagen op de school). Zeventien van de 40 laboratoria overwegen stagiaires aan te nemen die worden opgeleid in een duaal systeem.

Beschouwing

De gestelde doelen lijken met het verzamelen van de gegevens te zijn gehaald. Een exacte dekking van de enquête is niet te geven omdat uitsluitend de tellergegevens van de laboratoria ter beschikking staan en niet precies duidelijk is van hoeveel er geen antwoorden zijn

ontvangen. Bovendien wordt ook in huisartsenlaboratoria medisch-microbiologische diagnostiek verricht; die blijft mogelijk buiten beschouwing wanneer er geen arts-microbioloog is verbonden aan het laboratorium, zodat er geen relatie bestaat met de NVMM. Op basis van het adressenbestand van de NVMM en de aangeleverde enquêtes is een schatting gedaan van de respons. Hieruit kan wel worden geconcludeerd dat de respons voor regio west het minst was. Alle gegevens moeten in dit licht worden beoordeeld. De wel antwoordende laboratoria beschikken over een formatie van 1288 mensen die niet gelijkmatig zijn verdeeld over de regio's in verhouding met het inwoneraantal.

Het aanstellingspercentage, ook wel 'persoon-arbeidsplaatsen-ratio' (P/A-ratio) genoemd is over heel Nederland zeer constant met 84 procent, hetgeen neerkomt op een P/A-ratio van 119,6; dit is het aantal deeltijd-medewerkers dat het werk verricht van 100 voltijd-medewerkers. Er is grote overeenkomst met 1997 toen een ratio van 120,2 werd gevonden.³ Er zijn slechts geringe verschillen tussen de regio's onderling.

De laboratoria in de oostelijke regio zijn met een formatie van 31 fte groot ten opzichte van de regio noord met een formatie van 19 fte. De andere regio's bevinden zich daartussen.

De vacatures zijn in wisselende mate moeilijk te vervullen. Tekorten aan opgeleide MMA's worden zeer verschillend beleefd in de regio's. Eenendertig van de 43 vacatures voor HLO-opgeleide MMA's bevinden zich in de regio west, waar procentueel de meeste laboratoria melden moeite te hebben met het vervullen van de vacatures. Op het meetpunt waren er slechts 12 vacatures verdeeld over de andere regio's. In west bevinden zich dan ook de meeste laboratoria die moeilijk analisten vinden, maar daar worden ook de kleinere laboratoria aangetroffen. De reden van een moeilijke vervulbaarheid is behalve beschikbaarheid opvallend vaak een te gering kennisniveau dan wel gebrek aan vaardigheden. Dit heeft zeker betekenis voor de opleidingsinrichtingen.

Voor MLO-opgeleide MMA's gelden minder schokkende cijfers, vier laboratoria ondervinden daar moeilijkheden.

De meeste laboratoria begeleiden stagiaires. Er is in de enquête niet gevraagd naar voorziening praktijkleerperiode dan wel afstudeerperiode, wel gaat het nog altijd voornamelijk om de laatste periode van de opleiding. Toch verlenen 11 laboratoria al plaats aan leerlingen in de oriëntatiefase (snuffelstage). De redenen van het niet willen opleiden variëren, vaak zal de afwezigheid van enige vergoeding er één zijn. Een verbetering valt hierin niet te verwachten. De opleiding tot analist is neergelegd bij de hogescholen en die kunnen niet in een vergoeding voor stageplaatsen voorzien. Het opleidingsfonds (arts-assistenten, radiologisch laboranten, etc.) is niet bestemd voor analistenopleidingen. Daarbij komt dat ziekenhuizen

die geen stageplaatsen bieden wel (elders) opgeleide analisten aannemen; zij worden met de term *free riders* aangeduid.

Een variant van de laatste jaren is de duale opleiding. Na de propedeuse (eerste jaar) wordt de keuze voor duaal geboden (de klinische richting) versus de langerbestaande leerroute van voltijd. De duale opleiding heeft betrekking op de laatste tweeënhalf jaar van de opleiding. De student werkt gedurende vier dagen in het laboratorium, waarvan één dag wordt besteed aan opdrachten in het kader van de studie en één dag is een terugkomdag naar de hogeschool. Hij ontvangt daarvoor van het ziekenhuis 60 procent van het minimumjeugdloon met behoud van studietoelage, en na afstuderen het bachelordiploma dat recht geeft op bachelor- of ingenieurstitel. Van deze leerroute maken de zogenoemde snuffelstages in het tweede jaar van de opleiding, onderdeel uit. Deze opleidingsroute lijkt terrein te winnen. Zo'n 43 procent van de laboratoria maakt daarvan gebruik.

De gegevens die de enquête heeft opgeleverd, betreffen een momentopname; daarbij komt dat de dekking over Nederland niet sluitend lijkt te zijn. De NVMM zou moeten zorgen voor een nog beter inzicht in de microbiologische laboratoria en de daar uitgevoerde vakonderdelen. De enquêteurs adviseren de NVMM dan ook een actueel gegevensbestand aan te houden. Bij enquêtering dient per laboratorium één resultaat te worden ingestuurd en inzenders kunnen selectief worden aangespoord.

Het beeld dat uit de – weliswaar niet volledige – gegevens naar voren komt, is niet erg alarmerend. De tekorten aan analisten zijn te overzien, zij het dat in de regio west vacatures soms moeilijk zijn te vervullen. De praktijk in de verschillende laboratoria is aan verandering onderhevig.

Het is niet uitgesloten dat er minder formatie nodig zal zijn in de nabije toekomst door laboratoriumautomatisering; daarbij valt te denken aan *straatsystemen*, maar een factor kan ook zijn de *regionalisatie* (ruimtelijke samenvoeging volgens een stermodel) of *centralisatie* (functionele samenwerking volgens een netwerkmodel) van laboratoria, waardoor doelmatigheidswinst kan worden bereikt.

In deze enquête is geen onderscheid gemaakt tussen vacatures voor bacteriologische (inclusief parasitologie en mycologie) en virologische diagnostiek. Het is mogelijk dat hierin verschillen zijn. Bij de eerste is sprake van veel handwerk en is het aanleren van patroonherkenning en zelfstandig kunnen beslissen over wat wel en niet moet worden uitgewerkt een belangrijk onderdeel. Dit vergt waarschijnlijk meer training en ervaring dan het op aanvraag gericht uitvoeren van bepaalde testen. Bij de virologische diagnostiek is het aanleren van bepaalde technieken belangrijk, waarbij de bulk van de diagnostiek in toenemende mate wordt verricht met een beperkt aantal (PCR, EIA) technieken.

Hopelijk kan een enquête zoals deze worden herhaald op vergelijkbare manier waarbij een betere dekkingsgraad wordt nagestreefd. We zijn dan voorbereid op het moment dat zich werkelijk een dramatisch tekort aan medewerkers aandient.

Literatuur

1. HBO-raad, <http://www.hbo-raad.nl/>.
2. Opleidingsbehoefte aan Medisch analisten geanalyseerd, drs. W. van de Windt, 1991.
3. Medische laboratoriumlaboratoria en opleidingen in balans? Drs W. van de Windt, 1997. Nieuwsbrief juli 2008.
4. Enquête 'Personele bezetting analisten medische microbiologie'. Nieuwsbrief NVMM, juli 2008.

Laboratoriumdiagnostiek van tuberculose in Nederland

Inventarisatie van de situatie in 2008 getoetst aan de NVMM-richtlijn *Mycobacteriële laboratoriumdiagnostiek* (2006)

F. Vlaspolder

Trefwoorden: enquête 2008; Tuberculoserichtlijn

Inleiding

In 2009 hebben de laboratoria voor medische microbiologie die in Nederland diagnostiek voor tuberculose verrichten, een enquête ontvangen. In dit artikel presenteren we de bevindingen en vergelijken deze met de eerdere enquête uit 2001. Achterliggende vraag is of de implementatie van de richtlijn voor tuberculosediagnostiek in 2006 een verbetering van de diagnostiek en de veiligheid voor medewerkers heeft opgeleverd.

Door middel van deze enquête werd inzicht verkregen in de stand van zaken waarop de laboratoriumdiagnostiek van tuberculose in Nederland op basis van de richtlijn 2006 wordt verricht. In principe kan elk medisch-microbiologisch laboratorium in Nederland mycobacteriële diagnostiek verrichten. Uit de enquête over 2001¹ bleek dat de benadering van de diagnostiek zeer divers was. In 2008 bleken veel laboratoria de richtlijn van 2006 te hebben aangegrepen om een en ander aan te passen. Dit betrof voornamelijk bouwkundige aanpassingen en veranderingen in werkwijze van analisten. De laatste jaren is er ook meer aandacht voor de tuberculosediagnostiek gekomen: er waren twee visitaties (2003 en 2008) van een *International Review Team*, een enquête van IGZ, een workshop BSL-3 in 2008 en de landelijke tuberculosedagen (TB-dagen) in 2009. Ook is er naar aanleiding van een inspectierapport door het Cib en NVMM een nieuwe werkgroep (NVMM-Cib) ingesteld om de bioveiligheid en kwaliteit van de tuberculosediagnostiek te optimaliseren. De laatstgenoemde werkgroep komt binnenkort met een rapport met duidelijk uitgewerkte richtlijnen en aanbevelingen hoe een BSL-3-laboratorium ten behoeve van mycobacteriële diagnostiek er uit zou moeten zien. De werkgroep NVMM-richtlijn werkt aan een nieuwe versie 2010.

Materialen en methoden

Deelnemende laboratoria

Via het secretariaat van de NVMM zijn alle medisch-microbiologische laboratoria in Nederland aangeschreven. De enquête bestond uit 20 vragen gericht op het aantal kweken en identificaties afkomstig van patiënten, de diagnostiek en het veiligheidsniveau waaronder het kweken wordt verricht.

Er was een respons van 44 laboratoria. Van deze 44 laboratoria verrichten negenendertig laboratoria microscopie, kweek en/of moleculaire diagnostiek. Eén laboratorium verrichtte microscopie en moleculaire diagnostiek en vier laboratoria voerden uitsluitend microscopie uit en stuurden voor de verdere tuberculosediagnostiek hun materialen naar elders.

Resultaten

In 2008 werden er in totaal 62.492 patiëntenmaterialen ingestuurd voor ten minste een kweek op mycobacteriën. Vijfentwintig van de 39 laboratoria gaven naast het aantal materialen ook op hoeveel patiënten hiermee waren gemoeid. Het ging hier om 42.615 materialen afkomstig van 27.604 patiënten.

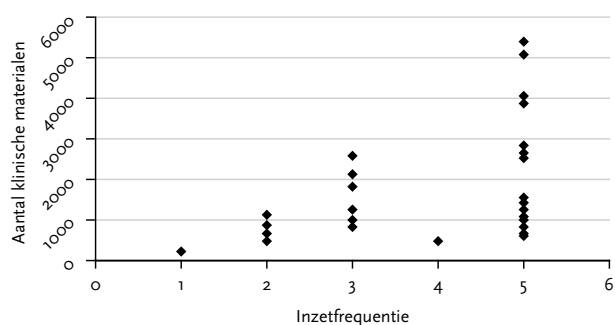
Frequentie van inzetten diagnostiek en het bewaren van patiëntenmaterialen

Een belangrijk kwaliteitsaspect van de diagnostiek is de tijd tussen ontvangst van het patiëntenmateriaal en het verwerken ervan voor de diagnostiek. In totaal werden

Namens de werkgroep: P. van Gerven, arts, namens het KNCV-tuberculosefonds, dr. E.J. Kuijper, arts-microbioloog, namens de NVMM, W. de Lange, longarts, namens NVALT, dr. C. Richter, internist-infectioloog, namens NIV, dr. D. van Soolingen, microbioloog, namens het RIVM, dr. A.G..M. van der Zanden, medisch moleculair microbioloog, namens de NVMM
Correspondentieadres: dr. F. Vlaspolder, arts microbioloog, Laboratorium voor Medische Microbiologie, Medisch Centrum Alkmaar, e-mail: f.vlaspolder@mca.nl

bij 61,5 procent (24/39) van de laboratoria op alle doorde-weekse dagen de materialen verwerkt. Eén laboratorium deed dit viermaal per week, zeven laboratoria driemaal per week, zes laboratoria tweemaal per week en één laboratorium eenmaal per week. Hoe zich dat verhoudt tot het aantal materialen dat wordt verwerkt, is weergegeven in *figuur 1*.

Figuur 1. Relatie tussen de frequentie van het inzetten van de patiëntenmaterialen (aantal malen per week) en het aantal materialen ontvangen per jaar in een laboratorium in 2008



Microscopie

Vier vragen gingen over het wel of niet volgen van de richtlijnen met betrekking tot het homogeniseren en concentreren van patiëntenmaterialen alvorens microscopische preparaten te maken. Verder richtten deze vragen zich op welke kleuringen werden gebruikt en op welke materialen deze werden toegepast.

Negenentwintig van de 44 laboratoria (66 procent) werken door middel van het homogeniseren en concentreren eerst het materiaal op alvorens preparaten te maken. Vier laboratoria doen dat gedeeltelijk, dus niet op alle materialen. Twee laboratoria zijn van plan alsnog de voorbewerking op te nemen in hun kwaliteitssysteem. Acht laboratoria maken preparaten van het directe materiaal en één laboratorium heeft de vraag niet beantwoord. Een vergelijking met 2001 is niet te maken, daar deze vraag niet is gesteld.

Tien van de 43 laboratoria (23 procent) werken het patiëntenmateriaal niet op om tot een gehomogeniseerd en geconcentreerd monster te komen voor het maken van preparaten, terwijl het homogeniseren en concentreren van materiaal de gevoeligheid van de microscopie aanzienlijk verhoogt.²

In 26 van 44 laboratoria (59 procent) waar microscopie wordt verricht, gebeurt dit op alle ingezonden patiëntenmaterialen. Van de 18 laboratoria die dat niet doen, blijken er 11 laboratoria urine niet microscopisch te beoordelen, vijf laboratoria verrichten geen microscopie op urine en maaginhoud en twee laboratoria voeren geen microscopie uit op pleuravocht. Het inzicht in het omgaan met andere materialen zoals bloed, beenmerg, feces en kleine bipten

werd niet verkregen. In de richtlijn wordt aanbevolen urine en maaginhoud wel te onderwerpen aan een kleuring, hoewel dit maar door weinig gepubliceerde onderzoeken wordt ondersteund. Leden van de werkgroep hebben 600 urinemonsters van controlepatiënten, voor wie geen tuberculosediagnostiek werd aangevraagd, gekleurd met een auraminekleuring. In geen van deze urinemonsters (volume > 30 ml) zijn zuurvaste staven gevonden. Dit betekent dat foutpositieve auraminekleuringen bij het onderzoeken van urine ten gevolge van de aanwezigheid van saprofytaire mycobacteriën, niet frequent voorkomen (*expert opinion*).

Kleuringen

Vijfendertig van de 44 laboratoria (80 procent) verrichten hun microscopie volgens de richtlijn. Een fluorochroommethode verdient de voorkeur als screening boven een Ziehl-Neelsenkleuring vanwege de hogere gevoeligheid. Een positief preparaat dient altijd te worden bevestigd met een Ziehl-Neelsenkleuring teneinde foutpositiviteit uit te sluiten.^{3,4} Zes laboratoria gebruikten geen auraminekleuring maar slechts de klassieke Ziehl-Neelsenkleuring. Twee laboratoria gebruikten alleen de auraminekleuring zonder confirmatie met een Ziehl-Neelsenkleuring. Eén laboratorium confirmeert de positieve auraminekleuring met een moleculaire methode. Vermeld dient te worden dat de laboratoria die tussen de 222 en de 1421 patiëntenmaterialen per jaar ontvingen (gemiddeld minder dan drie preparaten per dag) slechts de Ziehl-Neelsenkleuring verrichten.

Decontaminatiemethode

Zevenendertig van de 39 laboratoria (95 procent) gebruiken de NaOH-NALC-decontaminatie, waarvan vier de BBL-mycoprep[®] van BD. Twee laboratoria maakten gebruik van de NaOH-KH₂PO₄-methode. In de richtlijn staat beschreven dat de werkgroep de NaOH-NALC-methode heeft aanbevolen. In 2008 is ten opzichte van 2001 het gebruik van de decontaminatiemethode nauwelijks gewijzigd.

Kweek op mycobacteriën

In vergelijking met de enquête van 2001 is er ten aanzien van de variatie in de combinatie van media die werden gebruikt voor de kweek, niet veel veranderd. Het aantal laboratoria dat alleen een vloeibaar medium dan wel alleen een vast medium gebruikt, is nagenoeg hetzelfde gebleven. Er is een lichte verschuiving van een vloeibaar medium in combinatie met twee vaste media naar een vloeibaar medium in combinatie met één vast medium (*tabel 1*).

In de 39 laboratoria werden in totaal 62.492 mycobacteriële kweken verricht (*tabel 2*). In 1933 materialen werd een positieve kweek gevonden met een *Mycobacterium* behorend tot het *Mycobacterium tuberculosis*-complex. Deze waren afkomstig van 915 patiënten. In

Tabel 1. Vergelijking van enquêtegegevens van 2001 en 2008 over gebruik voedingsmedia

	2001 (%)	2008 (%)
Aantal laboratoria	32	39
Alleen vloeibaar	5 (15,6)	6 (15,4)
Alleen vast	3 (9,4)	2 (5,1)
Vloeibaar + 1x vast	10 (31,3)	19 (48,7)
Vloeibaar + 2x vast	14 (43,7)	12 (320,8)

geval van *non tuberculous mycobacteria* (NTM) werden deze 947 maal gekweekt en waren afkomstig van 674 patiënten. Uitgaande van 25 laboratoria die alle gevraagde gegevens hebben vermeld in de enquête 2008 over materialen, kweken en patiënten kan bij benadering het gemiddelde aantal respiratoire kweken per patiënt worden gegeven. Op basis van het uitgangspunt dat er één patiëntenmateriaal van niet-respiratoire oorsprong afkomstig is van één patiënt, blijven er 31.375 respiratoire monsters over afkomstig van $27.604 - 11.070 = 16.534$ patiënten. Dit komt neer op 1,9 respiratoir materiaal per patiënt. Hierbij dient te worden vermeld dat een correctie op doorgaans één BAL per patiënt niet kon plaatsvinden omdat deze getallen ontbraken. Vergelijken we het aantal door middel van deze enquête gevonden positieve patiënten (915) met het aantal eerste isolaten (758)* ontvangen door het RIVM, dan blijkt er een redelijke discrepantie te bestaan. Voor de NTM komen de getallen beter overeen, namelijk 674 positieve patiënten (enquête) en 639* door het RIVM ontvangen stammen. (*Bron RIVM 2008)

Moleculaire diagnostiek

In 2001 bleken 20 van de 32 geënuquêteerde laboratoria gebruik te maken van een moleculaire methode (60 procent). In 2008 hebben veel meer laboratoria moleculaire diagnostiek verricht en is dat duidelijk ten positieve gekeerd. Thans verrichtten 33 van de 40 laboratoria (82,5 procent) een moleculaire methode om mycobacteriën te detecteren in patiëntenmaterialen (tabel 3). In de 33 laboratoria waar moleculaire detectie werd gebruikt voor het aantonen van *M. tuberculosis*-complex,

Tabel 2. Overzicht aantal mycobacteriële kweken en bijbehorende resultaten

	TOTAAL AANTAL MATERIALEN	POSITIEVE TUBERCULOSE-KWEKEN	POSITIEVE NTM-KWEKEN	AANTAL PATIËNTEN	POSITIEVE TUBERCULOSE-PATIËNTEN	POSITIEVE NTM-PATIËNTEN	RESPIRATOIRE MONSTERS	NON-RESPIRATOIRE MONSTERS	AANTAL PATIËNTEN
25 laboratoria	42.615	1362	650	27604	661	452	31375	11070	27604
39 laboratoria	62.492	1933	947	NB*	915	674	NB*	NB*	NB*

NB* = niet bekend

Tabel 3. Vergelijking van het aantal medisch-microbiologische laboratoria dat moleculaire detectie verrichtte in 2001 en 2008

Moleculaire methode	2001		2008	
	Ja	Nee	Ja	Nee
	20	12	33*	7

*32 laboratoria verrichtten kweken en moleculaire detectie en één laboratorium verrichtte alleen moleculaire detectie.

werd in 14 laboratoria daarvan deze techniek ook gebruikt voor het aantonen van NTM.

Gevoeligheidsbepalingen

Zeven van de 39 laboratoria (18 procent) verrichtten gevoeligheidsbepalingen op de *Mycobacterium tuberculosis*-complexstammen. Eén van de zeven laboratoria verrichtte ook gevoeligheidsbepalingen op NTM. Drie van de zeven laboratoria gebruikten meerdere concentraties om de MIC's aan te tonen. Vier laboratoria gebruikten de zogenoemde éénpuntsmethode als MIC-bepaling. In 2001 werden er decentraal nog in 37,5 procent (12/32) gevoeligheidsbepalingen verricht en deze activiteit wordt nu dus steeds meer centraal bij het RIVM verricht. Dit is dan ook het enige laboratorium in Nederland dat meedraait in de kwaliteitscontrole van de WHO supranationale laboratoria.

Bioveiligheid

Het kweken van mycobacteriën dient te gebeuren onder BSL-3-condities en hiervoor is een BSL-3-laboratorium noodzakelijk. In deze enquête is naar een aantal belangrijke zaken gevraagd over de ruimte waar mycobacteriën worden gekweekt (tabel 4). De vraag over deze condities was verdeeld in vijf subvragen en luidde als volgt: 'Onder welke omstandigheden voert uw laboratorium de mycobacteriële kweken uit?'

- In de ruimte waar de algemene bacteriologie wordt verricht. **Wel/niet** in een flow-kast.
- In een ruimte apart van de algemene bacteriologie. **Wel/niet** in een flow-kast.
- In een ruimte waar **wel/geen** onderdruk heerst en waar direct toegang met de gang bestaat. **Wel/niet** in een flow-kast.

- d. In een ruimte waar **wel/geen** onderdruk heerst en die via een sluis, met **wel/geen** onderdruk ten opzichte van de gang, te bereiken is. **Wel/niet** in een flow-kast.
- e. In een ruimte waar **wel/geen** onderdruk heerst en die via een sluis, met **wel/geen** onderdruk ten opzichte van de gang, te bereiken is. De sluis heeft twee deuren die afhankelijk van elkaar kunnen worden geopend. **Wel/niet** in een flow-kast.
- Ad a. Eén laboratorium verrichtte de kweken op de algemene bacteriologie, maar wel in een flow-kast en zou in het najaar van 2009 in het bezit zijn van een BSL-3-faciliteit.
- Ad b. Drie laboratoria verrichtten hun mycobacteriële kweken elders in het laboratoriumgebouw, maar wel in een flow-kast.
- Ad c. Dit betrof één laboratorium waar in de aparte ruimte geen onderdruk bestond. De werkzaamheden werden wel in een flow-kast verricht. Tussen de subvragen b en c zit nauwelijks verschil in geval er geen onderdruk bestaat in de bewuste ruimte. Wel zal er waarschijnlijk minder analistenverkeer zijn in tegenstelling tot wanneer de aparte ruimte binnen het routinelaboratorium valt.
- Ad d. Dertien laboratoria gebruikten een aparte ruimte waarbij er in 12 gevallen onderdruk heerste; de ruimte toegankelijk is via een sluis waar in 10 gevallen onderdruk heerste. De deuren van de sluis werkten onafhankelijk van elkaar. In deze laboratoria werd binnen deze ruimte gebruikge- maakt van een flow-kast.
- Ad e. In 18 van 20 laboratoria werd aan bovenstaande eisen voldaan. In twee laboratoria was de drukhiërarchie met name in de sluis niet aanwezig.

Van 19 laboratoria die onder de subvragen a. tot en met d. vielen, werd in 11 gevallen aangegeven dat er in 2009 en 2010 werd gestreefd om op zijn minst aan de voorwaarden van subvraag e. te kunnen voldoen. Twee laboratoria zullen in 2011 en één in 2012 een BSL-3 kunnen betrekken samengaand met een grote

verbouwing van het laboratorium. Bij vijf laboratoria staan de bouwplannen op stapel, alleen werd er geen tijdstip genoemd.

Discussie

In principe kan elk medisch-microbiologisch laboratorium in Nederland mycobacteriële diagnostiek verrichten. Uit de enquête over 2001¹ bleek dat de benadering van de diagnostiek zeer divers was en dat laboratoria de richtlijn van 2006 hebben aangegepen een en ander aan te passen. Over het aantal laboratoria in Nederland dat actief is op het gebied van de laboratoriumdiagnostiek van tuberculose lopen de getallen uiteen. Ten tijde van de enquête in 2001 waren ongeveer 45 laboratoria met bovenstaande diagnostiek bezig. Tijdens sommige presentaties werd zelfs het getal van 53 laboratoria genoemd en soms als zodanig meegenomen in discussies, mede door de overheid en het internationale *review*-team (2008).

Naar aanleiding van deze enquête is gebleken dat niet altijd meer een verband bestaat tussen de naam op de RIVM-inzendlijst en het verrichten van mycobacteriële kweken. Voor mijn eigen regio sprekend, komt bijvoorbeeld het microbiologisch laboratorium van het Westfries Gasthuis te Hoorn op de inzendlijst voor, terwijl de kweken worden verricht in het laboratorium voor medische microbiologie in het Medisch Centrum Alkmaar. Zo waren er soortgelijke situaties elders in het land. Na het opschonen van de RIVM-lijst zijn er nog 39 laboratoria in Nederland die mycobacteriële kweken in het eigen laboratorium verrichten. De verantwoordelijken voor de tuberculosediagnostiek van deze 39 laboratoria hebben allen de enquête over 2008 ingevuld. Daarnaast hebben vijf laboratoria gereageerd die geen kweken in eigen beheer verrichten, maar wel microscopie en/of een moleculaire methode gebruiken. Namens de werkgroep wil ik alle participanten hartelijk danken voor het leveren van de gegevens.

De enquête van 2008 laat zien dat er op gebied van de inzetfrequentie van het patiëntenmateriaal niet veel verschil is ten opzichte van de situatie in 2001. De frequentie hangt veelal samen met de hoeveelheid te verwerken patiëntenmaterialen. Hoewel de vraag in de enquête van 2001

Tabel 4. Vraag 19 uit enquête 2008 'Omstandigheden waaronder de mycobacteriële kweken in de laboratoria worden uitgevoerd'

	ONDERDRUK LAB RUIJTE		ONDERDRUK SLUIS		INTERLOCK-WERKENDE DEUREN		FLOW-KAST	
	Wel	Niet	Wel	Niet	Wel	Niet	Wel	Niet
a.	nvt	nvt	nvt	nvt	nvt	nvt	1	0
b.	nvt	nvt	nvt	nvt	nvt	nvt	3	0
c.		1					1	0
d.	12	2	10	4		14	14	0
e.	20		19	1	20		20	0

niet is gesteld, zijn er meer laboratoria de laatste jaren de materialen gaan voorbereiden (homogeniseren en concentreren) alvorens microscopie te verrichten (tussentijdse mededelingen). Toch voeren 10/43 laboratoria (23 procent) nog geen homogenisatie en concentratie uit van materiaal alvorens microscopie te verrichten. Deze laboratoria volgen de richtlijnen van de NVMM dus (nog) niet.

De auraminekleuring wordt in zes van de 44 laboratoria (14 procent) niet gebruikt als screeningsmethode. In 2001 waren dat er vijf van 32 (16 procent). Die laboratoria die alleen een ZN- of Kinyounekleuring gebruiken, doen dit op een klein aantal aangeboden materialen (gemiddeld drie per dag). De decontaminatiemethode is nauwelijks anders dan in 2001 en is conform de richtlijn. Bijna 80 procent van de laboratoria maakt gebruik van een vast en vloeibaar medium. Er is een klein aantal laboratoria (zes) dat gebruikmaakt van alleen een vloeibaar medium met waarschijnlijk de gedachte dat simultaan bebroeden van een vast medium geen winst oplevert. Twee laboratoria gebruiken, jammer genoeg, alleen vaste media. Deze laboratoria vergeten de tijdswinst die vloeibare media kunnen opleveren ten gunste van een vroeger resultaat. Ook hier moeten we constateren dat deze laboratoria (nog) geen gebruik hebben gemaakt van de richtlijnen van onze beroepsgroep.

In 2001 zijn er ongeveer 65.000 patiëntenmaterialen in 32 laboratoria verwerkt. Thans bedraagt dat 62.492 ingezonden materialen, maar nu verwerkt door 39 laboratoria. Het gevonden aantal positieve patiënten (915) blijkt af te wijken van het aantal eerste isolaten verzonden naar het RIVM (758). Is hier sprake van dubbeltelling door de geënuqueterden? Waarschijnlijk niet; uit de vergelijking met de Nederlandse Tuberculose Registratie (NTR) blijkt dat wel alle isolaten worden ingestuurd. Aangezien tuberculose een aangifteplichtige ziekte is en in het kader van de nationale surveillance van resistentie en transmissie eerste isolaten naar het RIVM worden gezonden, is het vermoeden dat er van een deel van de patiënten kweken worden ingezet in verschillende laboratoria. Dit wordt nog nader onderzocht door vergelijking met het NTR van het KNCV tuberculosefonds in Den Haag.

Het introduceren van moleculaire methoden was in 2001 bij twintig van de 32 laboratoria (62,5 procent) geschied. In 2008 is dat gestegen tot 82,5 procent (33/40). Bij de twintig laboratoria die in 2001 moleculaire methoden hanteerden, bleken zes laboratoria de kweekcontrole naast de moleculaire detectie achterwege te laten. Thans is er slechts één laboratorium die het kweken bij een negatieve PCR op respiratoire monsters achterwege laat. Hierbij wordt waarschijnlijk uitgegaan van een zeer hoog negatiefvoorspellende waarde van de gebruikte PCR en worden er mogelijk drie respiratoire patiëntenmaterialen standaard ingezonden.

Het gemiddelde inzendgedrag ligt op 1,9 respiratoir materiaal per patiënt. De vigerende richtlijn raadt het screenen met moleculaire detectie vooralsnog af. Uit

verschillende ervaringen is gebleken dat een deel van de materialen negatief in een moleculaire detectie, alsnog positieve kweken opleveren. Het verrichten van alleen kweken zonder moleculaire detectie is in Nederland slechts in zeven van de 39 laboratoria nog niet doorgevoerd. In de richtlijn van het CDC van januari 2009 wordt naast gebruikelijke diagnostiek een moleculaire detectie, minimaal op één respiratoir patiëntenmateriaal uit te voeren, sterk aanbevolen.⁵ Dit onderwerp zal bij de revisie van de richtlijn op de agenda staan.

In 2001 waren er 12 van de 32 laboratoria (38 procent) die fenotypische gevoeligheidsbepalingen verrichten, in 2008 waren dat er nog slechts zeven van de 39 laboratoria (18 procent). Er heeft duidelijk een centralisatie plaatsgevonden richting het RIVM; mogelijk mede vanwege de breed opgezette kwaliteitscontrole binnen de WHO supranationale laboratoria. Er is door geen van de laboratoria aangegeven dat zij een genotypische gevoeligheidsbepaling gebruiken. Een belangrijk punt van aandacht is onder welke omstandigheden de mycobacteriële kweken worden verwerkt. De vraag in de enquête over een BSL-3-faciliteit is slechts beperkt gebleven tot de grote lijnen zoals werken in een flow-kast, in een aparte ruimte met onderdruk, de aanwezigheid van een sluis met een interlock. Er zijn veel meer details nodig om een laboratorium een BSL-3-faciliteit te noemen. Op basis van de enquête zou men het idee kunnen krijgen dat de situatie in Nederland goed op orde is. Een vergelijking met de enquête over 2001 is niet te maken, omdat er toen geen vragen over BSL-3 zijn gesteld. Een telefonische ronde is wel verricht in 2005/2006. De situatie in 2009 is zeker ten aanzien van 2005/2006 sterk verbeterd. Dit betekent niet dat de laboratoria die aangaven dat ze subvraag e. positief hebben beantwoord, een BSL-3-laboratorium hebben.

Er is bewustwording bij de artsen-microbioloog en aandacht in de vorm van richtlijnen. De ingevulde enquête over 2008, hoge inschrijving van de cursus 'Biosafety level 3' van het RIVM (september 2008) en de hulpvragen vanuit het veld aan de leden van de NVMM-Cib werkgroep over BSL-3-laboratoriumverbouwingen, onderschrijven dit. Neemt niet weg dat het grote aantal laboratoria (19) dat mycobacteriële diagnostiek verricht zonder BSL-3-condities als zorgwekkend kan worden gezien. Echter, de enquête vond plaats in 2009 en bij het verschijnen van dit artikel is er reeds een jaar verstreken. De situatie kan al weer anders zijn. Voor het verbeteren van de veiligheidseisen van het BSL-3-faciliteit is daarom een eenduidige en heldere formulering van de eisen nodig waaraan deze moet voldoen; dit wordt in het aankomende NVMM-Cib-rapport beschreven.

Conclusie

De NVMM-richtlijn 'Mycobacteriële laboratoriumdiagnostiek' van 2006 heeft een belangrijke bijdrage geleverd aan de verbetering van de huidige diagnostiek. Er zijn nog

laboratoria die hebben aangegeven op korte termijn een aantal verbeteringen door te voeren en in hun kwaliteitssysteem op te nemen. Een punt van zorg is de omstandigheid waarin sommige laboratoria de slag om onder BSL-3-condities te kunnen werken, nog niet hebben kunnen maken vanwege bijvoorbeeld het wachten op een verbouwing in een groter kader. Diverse laboratoria besteden hun kweken nu uit aan andere laboratoria die wel onder BSL-3-omstandigheden werken. Het periodiek meten van de ontwikkelingen op dit gebied en het terugkoppelen hiervan zullen op den duur het gewenste resultaat bereiken.

Literatuur

1. Vlaspolder F, Gageldonk-Lafeber RAB van, Kuijper EJ, Zanden AGM van der, Soolingen D van. Laboratoriumdiagnostiek van tuberculose in Nederland; inventarisatie van de situatie in 2001 getoetst aan de richtlijn Mycobacteriële laboratoriumdiagnostiek. Infectieziektenbulletin. 2007;2:45-54.
2. Meer-Veringa EM ter, Geers N. Verhogen van de gevoeligheid van microscopisch onderzoek naar Mycobacteriën in sputum. NTMM 2005;4 65-7.
3. Ba F, Rieder HL. A comparison of fluorescence microscopy with the Ziehl-Neelsen technique in the examination of sputum for acid-fast bacilli. Int J Tuberc Lung Dis. 1999;3:1101-5.
4. Collins FM, Morrison NE, Dhople AM, Watson SR. Microscopic carried out on Mycobacterium leprae and M. tuberculosis suspension: a comparison of three staining procedures. Int J Lepr Other Mycobact Dis. 1980;48:402-7.
5. Updated Guidelines for the Use of Nucleic Acid Amplification Tests in the Diagnosis of Tuberculosis MMWR 2009;58(01):7-10.

Twee patiënten met tuberculeuze meningitis; denk ook aan *M. bovis* als verwekker

A. van Laarhoven, J.A. Kaan, H.M. Schippers, H.J. Mager, D. van Soolingen, M.F.G. van der Meulen

Samenvatting

De ziektegeschiedenissen van twee immunocompetente patiënten met tuberculeuze meningitis worden besproken. De liquor cerebrospinalis van één van hen bevatte *Mycobacterium bovis*, een uitzonderlijke verwekker van tuberculeuze meningitis in westerse landen.

Trefwoorden: interferon-gamma-release-assay (IGRA), *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis* complex, tuberculeuze meningitis

Inleiding

In 1941 beschreef prof. dr. Ten Bokkel Huinink in zijn 'Clinische les' meningitis tuberculosa als een 'verschrikkelijke ziekte'.¹ De twee hieronder beschreven ziektegeschiedenissen van patiënten met een infectie van het centrale zenuwstelsel door *Mycobacterium tuberculosis*-complex tonen dat deze uitspraak actueel is. Weliswaar zijn er inmiddels wél mogelijkheden voor behandeling, maar in de helft van de gevallen leidt meningitis tuberculosa nog steeds tot de dood of ernstige restverschijnselen.^{2,3} De hier beschreven patiënten bij wie geen pulmonale tuberculose bekend was, illustreren de sterk variërende klinische verschijningsvormen. Tuberculose heeft wereldwijd een hoge incidentie en eist elk jaar 1,8 miljoen slachtoffers.⁴ In onze regio behoren behalve reizigers en immigranten, immuungecompromitteerde patiënten, drugs- of alcoholverslaafden, daklozen en gedetineerden tot de risicogroep. Aan de hand van onderstaande casuïstiek wordt tuberculeuze meningitis en met name de diagnostiek besproken.

Patiënt A, een 25-jarige Sri Lankaanse vrouw, presenteerde zich op onze afdeling Spoedeisende hulp met hoesten, rillen en slaperigheid sinds een maand. Er was tevens sprake van obstipatie en 1,5 liter urineretentie. Ze woonde sinds drie jaar in Nederland. Bij opname was haar temperatuur 36,2 °C en de bloeddruk 135/95 mmHg. Bij neurologisch onderzoek was haar bewustzijn E3M6V2 op de *Glasgow Coma Scale* (GCS). Bij fundoscopie was er papiloedeem. Onderzoek van de hersenzenuwen toonde verder een divergente oogstand, een dubbelzijdige perifere facialisparese, hypotone beenmusc-

latur en areflexie. Ze was niet meningeaal geprikkeld. Het laboratoriumonderzoek toonde een microcytaire anemie, mild verhoogde ontstekingsparameters en een hyponatriëmie (referentiewaarden tussen haakjes): hemoglobine 5,0 mmol/l (7,7-9,6), hematocriet 0,26 (0,36-0,44), MCV 63 fl (83-98) leukocyten 11,4x10⁹/l (3,0-10,0) met een neutrofilie van 10,3x10⁹/l (1,2-7,5), natrium 124 mmol/l (137-143) en CRP van 55 mg/l (< 10). Op de X-thorax was een fijne nodulaire tekening over beide longvelden zichtbaar en de CT-cerebrum liet een communicerende hydrocefalus met hersenoedeem zien. De liquor cerebrospinalis toonde een milde pleiocytose met leukocyten 25/μl (< 5) waarvan 40 procent granulocyten, een sterk verhoogd eiwit van 1,97 g/l (0,20-0,40) en een laag glucose van 2,1 mmol/l (2,5-4,0). De glucose-index van liquor/bloed was 0,33 (0,45-0,70). De gramkleuring toonde geen micro-organismen en hiv-serologie was negatief. Er was een sterke verdenking op tuberculeuze meningitis gezien de klinische presentatie met gedaald bewustzijn, hersenzenuwuitval en polyradiculitis of myelitis gecombineerd met de bevindingen op X-thorax en in de liquor. Differentiaaldiagnostisch werd gedacht aan een basale meningitis en polyradiculitis of myelitis veroorzaakt door *Borrelia burgdorferi*, *Treponema pallidum* of *Listeria monocytogenes* of door een virale of parasitaire oorzaak. Binnen 24 uur werd de patiënt behandeld met ceftriaxon, aciclovir, dexamethason, isoniazide, pyrazi-

A. van Laarhoven, student geneeskunde, Universiteit Utrecht, J.A. Kaan, arts-microbioloog, St Antonius Ziekenhuis en Diaconessenhuis Utrecht, afdeling Microbiologie en Immunologie, H.M. Schippers, neuroloog en kinderneuroloog, St Antonius Ziekenhuis Utrecht en St Antonius Ziekenhuis Nieuwegein, afdeling Neurologie, dr. H.J. Mager, longarts, St Antonius Ziekenhuis Utrecht en St Antonius Ziekenhuis Nieuwegein, afdeling Longziekten, dr. D. van Soolingen, hoofd Tuberculose Referentie Laboratorium, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, dr. M.F.G. van der Meulen, neuroloog, St Antonius Ziekenhuis Utrecht, afdeling Neurologie.
Correspondentieadres: dr. M.F.G. van der Meulen, St Antonius Ziekenhuis Utrecht, afdeling neurologie, Postbus 8605, 3503 RP Utrecht, e-mail: M.Meulen@antoniuziekenhuis.nl

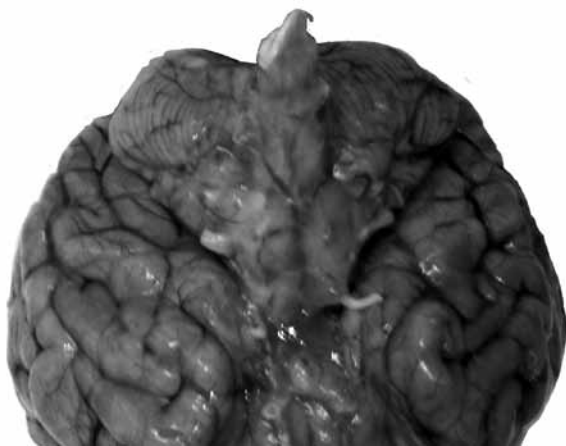
namide, rifampicine en ethambutol. Dit beleid werd gecontinueerd ook toen bleek dat de PCR op *Mycobacterium tuberculosis*-complex in de liquor negatief was.

Op dag drie van de opname had patiënte plotseling een sterk gedaald bewustzijn (E2M4V1) en wijde, lichtstijve pupillen. Een nieuwe CT-cerebrum toonde toename van de hydrocefalus. Ontlastende lumbaalpuncties volgden en er werd een externe ventriculaire drain geplaatst. De klinische conditie verbeterde kortdurend, maar patiënte overleed op dag vijf. Enkele dagen later groeiden zuurvaste staven in de kweek van de oorspronkelijke liquor, uiteindelijk gedetermineerd als *Mycobacterium tuberculosis*, gevoelig voor alle gangbare tuberculostatica.

Bij obductie werden zuurvaste staven gevonden in een mediastinale lymfeklier met miliaire uitbreiding in longen, lever, milt, nieren, bijniere en beenmerg. Verder was er een granulomateuze ontsteking met centrale necrose in hersenstam en cerebellum alsmede de vermoede basale meningitis (figuur 1).

Patiënt B, een 66-jarige Nederlandse vrouw zonder relevante medische voorgeschiedenis of reiservaring, werd in verband met buikpijn opgenomen op de afdeling interne geneeskunde. Lichamelijk onderzoek ondersteunde de waarschijnlijkheidsdiagnose peridiverticulitis. Het laboratoriumonderzoek toonde een verlaagd natrium van 124 mmol/l (137-143) en kalium van 2,8 mmol/l (3,5 – 5,0) en een licht verhoogd LDH van 539 U/l (< 220). De X-thorax en CT-abdomen waren niet afwijkend en de CT-thorax toonde een mediastinale lymfeklier. Op dag twee van de opname kreeg patiënte 40,0 °C koorts en ze werd empirisch behandeld met ceftriaxon en metronidazol. Op dag vier klaagde ze over intermitterend dubbelzien. Neurologisch onderzoek en een CT-cerebrum waren zonder afwijkingen. Op dag negen werd geen koorts gemeten, maar was ze licht gedesoriënteerd in

Figuur 1. Bij obductie was bij patiënt A. de basale meningitis duidelijk zichtbaar. De foto laat infiltraat zien over de pons, medulla oblongata en de basale meningen



tijd en plaats. Er werd besloten tot het verrichten van een lumbaalpunctie. Deze verliep traumatisch en toonde leukocyten 82/ μ l (< 5/ μ l), waarvan 6 procent granulocyten, erythrocyten 229 (0/ μ l), glucose 1,0 mmol/l (2,5-4,0) bij een normaal serumglucose. Gram- en auraminekleuring van de liquor lieten geen micro-organismen zien en PCR's op *Mycobacterium tuberculosis*-complex, Herpes simplex en Varicella-zostervirus waren negatief. De waarschijnlijkheidsdiagnose was atypische subacute of virale meningoencefalitis en aciclovir werd aan de ceftriaxon toegevoegd. Een volgende lumbaalpunctie op dag elf toonde behalve van een milde leukocytose, een extreme laag glucose van 0,1 mmol/l bij een hoog totaal eiwit van 4,0 g/l (0,20-0,40). Op dag dertien werd patiënte aangetroffen met asystolie. Ze werd gereanimeerd en op de intensive care ondersteund. Op dag vijftien overleed ze. Toestemming voor autopsie werd niet verleend. Pas na haar overlijden bleek de PCR op het tweede liquormonster positief voor *M. tuberculosis*-complex. De Mycobacteria in de liquorkweek werden gedetermineerd als *Mycobacterium bovis*, gevoelig voor alle gangbare tuberculostatica behalve pyrazinamide.

Discussie

Beide casus tonen de diagnostische valkuilen van tuberculeuze meningitis bij immunocompetente patiënten zonder voorgeschiedenis van longtuberculose. De klinische verdenking was hoog bij de eerste patiënt, maar laboratoriumuitslagen waren aspecifiek en de microbiologische diagnose kon slechts post mortem worden gesteld. Bij de tweede patiënt waren het extreme lage glucose en hoge eiwitgehalte van de liquor aanwijzend, maar de klinische presentatie was atypisch met milde verwardheid als enige manifestatie.

Epidemiologie

In westerse landen wordt tuberculeuze meningitis vrijwel uitsluitend veroorzaakt door *Mycobacterium tuberculosis*. Soms is de verwekker een andere vertegenwoordiger van het *Mycobacterium tuberculosis*-complex (*M. africanum*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. cannetti*, *M. pinnepidi* of *M. microti*) of een niet-tuberculeuze *Mycobacterium*.

De incidentie van infecties door *M. bovis* nam sterk af nadat pasteurisatie van melk in 1940 verplicht werd gesteld.⁵ In de daaropvolgende periode tot halverwege de jaren zestig van de vorige eeuw werd de bacterie uit de veestapel verbannen. Het aandeel van *M. bovis* in tuberculose-infecties betrof gemiddeld slechts 1,1 procent van alle casus van tuberculose in Nederland van 1993 tot 2006⁶ en 0,5-1,5 procent van de gevallen in het Verenigd Koninkrijk van 1990 tot 2003.⁷ Slechts zes casus van meningitis veroorzaakt door *M. bovis* staan tussen 1993 en 2007 in het Nationale Tuberculose Register van het KNCV vermeld.⁶ *Mycobacterium bovis*-infecties worden bijna altijd oraal overgedragen via ongepasteuriseerde melk

of andere zuivelproducten en slechts zelden van mens tot mens.⁸ Daarom veroorzaken *M. bovis*-infecties vergeleken met *M. tuberculosis* vaker extra-pulmonaire tuberculose, in het bijzonder abdominale lokalisaties komen vaak voor.⁹ Bij oude patiënten kunnen sluimerende infecties die zijn opgelopen voor de wijdverbreide toepassing van melk, op latere leeftijd reactiveren bij afname van de activiteit van het immuunsysteem.

Mortaliteit van tuberculose in Nederland is momenteel 0,75/100.000/jaar volgens de gegevens van de WHO.⁴ Het KNCV hanteert een striktere definitie en rapporteert een mortaliteit van 0,15/100.000/jaar in 1993-2008, waarbij 10,4 procent overlijdt ten gevolge van meningitis.⁶

Diagnostiek

Bij onze beide patiënten waren infectieparameters normaal of slechts licht verhoogd zoals vaak bij tuberculeuze meningitis en alleen de eerste patiënt had een afwijkende X-thorax zoals in de helft van de gevallen.¹⁰ Klassieke tekenen van bacteriële meningitis zijn slechts bij de helft van de patiënten aanwezig: hoofdpijn (50-80 procent), koorts (60-95 procent) en meningeale prikkeling (40-80 procent). Ook kan verwardheid (10-30 procent) het enige presenterende symptoom zijn, zoals bij onze tweede patiënt. De vliezen van het ruggenmerg zijn bij minder dan 10 procent van de patiënten betrokken, met paraplegie als gevolg.³

Bij liquoranalyse is een extreem hoogeiwitgehalte of een laag glucosegehalte in liquor ten opzichte van bloed aanwijzend. Vergeleken met andere bacteriën veroorzaakt *M. tuberculosis*-complex een minder uitgesproken pleocytose met een relatieve lymfocytose.¹⁰ Op een CT-cerebrum worden vaak aspecifieke afwijkingen, waaronder hydrocefalus gezien; versterkte basale aankleuring en tuberculomen zijn meer richtinggevend. MRI kan afwijkingen aan hersenstam en cerebellum gedetailleerder weergeven, alsmede de uitgebreidheid van het exsudaat.¹⁰

Als zuurvaste staven in de liquor worden aangetoond, met lichtmicroscopie na kleuring volgens Ziehl-Neelsen of fluorescentiemicroscopie na auraminekleuring, is de diagnose snel te stellen. Dit is helaas slechts zelden mogelijk.¹⁰ Geautomatiseerde kweek in vloeibare media die geagiteerd worden, verhoogt de sensitiviteit van detectie. PCR direct op liquor heeft een vergelijkbare sensitiviteit van 56 procent (95 procent betrouwbaarheidsinterval 46-66) bij een specificiteit van groter dan 99 procent.¹¹ Ook is het nu mogelijk op het gekweekte materiaal directe moleculaire resistentiebepaling voor rifampicine¹² of isoniazide toe te passen. Als het centrale zenuwstelsel is aangedaan echter, is het wachten op traditionele species-determinatie en een antibiogram uiteraard niet mogelijk. Sinds enkele jaren zijn er interferon- γ -release-assays (IGRA's) die voor tuberculose specifieke T-cellen

detecteren, beschikbaar. Relatief grote hoeveelheden van interferon- γ -producerende T-cellen in de liquor ten opzichte van perifeer bloed wijst op *pooling* van specifieke T-cellen. Dit ondersteunt de diagnose tuberculeuze meningitis.¹³ Een recent onderzoek bij een populatie met lage incidentie toonde een 50 procent sensitiviteit (95 procent betrouwbaarheidsinterval 7-93) en 95 procent specificiteit (95 procent BI 74-100) aan als minimaal twee keer meer specifieke T-cellen in liquor ten opzichte van bloed worden gevonden.¹⁴ Deze gegevens dienen in een nieuw onderzoek nog te worden bevestigd voordat ze van nut zijn in de dagelijkse praktijk.

Behandeling

Tuberculeuze meningitis wordt behandeld met minimaal drie tuberculostatica (meer indien het vermoeden op resistentie bestaat) en corticosteroïden voor hiv-negatieve patiënten.^{10,15} Bij *M. bovis* moet worden betrokken dat deze *Mycobacterium* resistent is tegen pyrazinamide.⁷ De prognose blijft ook bij tijdige, adequate behandeling somber; slechts de helft van de patiënten overleeft zonder ernstige beperkingen.^{2,3} Bij patiënten met meningitis ten gevolge van andere bacteriële verwekkers betreft dit 66 procent van de patiënten.¹⁶ Hydrocefalus zoals in onze tweede casus is voorspellend voor een slecht herstel, met een *hazard ratio* op overlijden van 10,6 (95 procent BI 3,3-34,3).¹⁷

Conclusie

M. tuberculosis-complex moet als verwekker worden overwogen bij alle patiënten met subacute meningitis of een veranderd bewustzijn, ook als ze buiten de risicogroepen vallen en niet bekend zijn met pulmonale tuberculose. Onze tweede casus toont dat ook infectie met *M. bovis* een fulminant beloop kan hebben en kan optreden bij immunocompetente patiënten in landen met een lage incidentie. Behandeling moet al bij klinische verdenking op tuberculeuze meningitis worden gestart na afname van materiaal voor diagnostiek.

Summary

We present two cases of tuberculous meningitis in immunocompetent patients. The cerebrospinal fluid of one patient revealed *Mycobacterium bovis*, an exceptional cause of tuberculous meningitis in developed countries. In this report, recent developments in laboratory diagnostic by interferon-gamma release assays receive special attention.

Dankbetuiging

De auteurs bedanken dr. C. van Gastel, internist, voor zijn kritische commentaar en dr. P.C. de Bruin, patholoog, voor het ter beschikking stellen van de autopsiefoto.

Literatuur

1. Bokkel Huinink AT. Het vóórkomen van meningitis tuberculosa. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 1941;85:4704-7.
2. Girgis NI, Sultan Y, Farid Z, et al. Tuberculosis meningitis, abbassia fever hospital-naval medical research unit no. 3-cairo, egypt, from 1976 to 1996. *Am J Trop Med Hyg.* 1998;58:28-34.
3. Thwaites GE, Nguyen DB, Nguyen HD, et al. Dexamethasone for the treatment of tuberculous meningitis in adolescents and adults. *N Engl J Med.* 2004;351:1741-51.
4. WHO. Global tuberculosis control - epidemiology, strategy, financing. 2009;WHO/HTM/TB/2009.411:12 and 253. Beschikbaar op: http://www.who.int/tb/publications/global_report/2009/en/index.html. Geraadpleegd op 9 februari 2010.
5. Ruys RA. De bestrijding van de bovine tuberculose en de veranderingen in het epidemiologische beeld der tuberculose. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 1952;96:676-81.
6. KNCV Tuberculosefonds. TBC Data Tuberculose Ziekte. Beschikbaar op: <http://www.kncvtsurvey.nl/ziekte>. Geraadpleegd op 15 mei 2010.
7. de la Rúa-Domenech R. Human mycobacterium bovis infection in the united kingdom: Incidence, risks, control measures and review of the zoonotic aspects of bovine tuberculosis. *Tuberculosis (Edinburgh).* 2006;86:77-109.
8. Evans JT, Smith EG, Banerjee A, et al. Cluster of human tuberculosis caused by mycobacterium bovis: Evidence for person-to-person transmission in the UK. *Lancet.* 2007;369:1270-1276.
9. LoBue PA, Betacourt W, Peter C, Moser KS. Epidemiology of mycobacterium bovis disease in San Diego county, 1994-2000. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2003;7:180-5.
10. Thwaites GE, Tran TH. Tuberculous meningitis: Many questions, too few answers. *Lancet Neurol.* 2005;4:160-170.
11. Pai M, Flores LL, Pai N, Hubbard A, Riley LW, Colford JM Jr. Diagnostic accuracy of nucleic acid amplification tests for tuberculous meningitis: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2003;3:633-43.
12. Yang S, Rothman RE. PCR-based diagnostics for infectious diseases: Uses, limitations, and future applications in acute-care settings. *Lancet Infect Dis.* 2004;4:337-48.
13. Kusters K, Nau R, Bossink A, et al. Rapid diagnosis of CNS tuberculosis by a T-cell interferon-gamma release assay on cerebrospinal fluid mononuclear cells. *Infection.* 2008; 597-600.
14. Kim SH, Chu K, Choi SJ, et al. Diagnosis of central nervous system tuberculosis by T-cell-based assays on peripheral blood and cerebrospinal fluid mononuclear cells. *Clin Vaccine Immunol.* 2008;15:1356-62.
15. Prasad K, Singh MB. Corticosteroids for managing tuberculous meningitis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008;(1):CD002244.
16. Beek D van de, Gans J de, Spanjaard L, Weisfelt M, Reitsma JB, Vermeulen M. Clinical features and prognostic factors in adults with bacterial meningitis. *N Engl J Med.* 2004;351:1849-59.
17. El Sahly HM, Teeter LD, Pan X, Musser JM, Graviss EA. Mortality associated with central nervous system tuberculosis. *J Infect.* 2007;55:502-9.

Nieuwe rubriek

M. Jager

Veel artsen-microbioloog hebben voorafgaand, tijdens of na hun opleiding waardevolle ervaring opgedaan in het buitenland. Ongeacht het land van betrekkingen levert dit een schat aan verhalen, resultaten, connecties en praktische tips op. Het delen van deze verhalen en resultaten kan collega's inspireren hun blik te verruimen, terwijl de connecties en tips hen kunnen helpen de buitenlandervaring ook binnen bereik te krijgen. Het blijkt dat de meeste arts-assistenten in opleiding tot specialist (AIOS) de wens hebben om een periode tijdens hun opleiding naar het buitenland te gaan. Sinds 1 januari 2010 kan dat officieel worden geregeld met behoud van salaris. In het volgende nummer van NTMM beschrijven we de resultaten van een behoefteanalyse onder AIOS medische microbiologie en welke stappen ondernomen moeten worden om dit doel te bereiken.

Via deze nieuwe rubriek 'Ervaringen in het buitenland' willen wij alle artsen-microbioloog, opleiders en AIOS op de hoogte houden van de internationale activiteiten van Nederlandse collega's, wat ze bereiken en wat de mogelijkheden van uitwisseling zijn. Tevens willen wij de Werkgroep Internationale Medische Microbiologie (WIMM) introduceren, een werkgroep met als doel om internationale initiatieven uit Nederland te promoten en samenwerking te stimuleren. De WIMM is een belangrijk medium waarmee we alle ervaringen kunnen bundelen en microbiologisch Nederland op de wereldkaart kunnen zetten; voor AIOS kan dit wellicht een eerste ingang zijn voor een buitenlandstage. Hieronder volgt de eerste bijdrage, van arts-microbioloog Edmée Bowles. Zij is voorzitter van het WIMM-bestuur en heeft ervaring opgedaan in Zambia.

WIMM: internationaal samenwerken in de Medische Microbiologie

E.C. Bowles

WIMM

De Werkgroep Internationale Medische Microbiologie (WIMM) is in 2009 opgericht door een aantal NVMM-leden met als doel een netwerk te vormen van medisch-microbiologen die zich willen inspannen voor internationale samenwerking. Kernpunt is het wederzijds uitwisselen van mensen en kennis, zowel met collega's in derdewereldlanden als in de westerse wereld en de voormalige Sovjet-Unie. Dit kan bestaan uit stages, onderzoek, assessments, *capacity building* en wederzijdse uitwisselingsprogramma's. Er zijn verschillende uitwisselingen geweest met laboratoria in Hongarije. Er is onderwijs gegeven aan medische studenten in Mozambique en er is een cursus basale microbiologie gegeven aan laboranten in Ghana.

Zambia

Afrika heeft aan veel zaken gebrek, maar infectieziekten zijn er in overvloed. Dat maakt het extra schrijnend dat er

op dit continent zo weinig laboratoria zijn om die infectieziekten te diagnosticeren. Sporadisch vind je er moderne laboratoria waar in onderzoeksverband diagnostiek wordt verricht. Vaak zijn die faciliteiten alleen beschikbaar voor patiënten die binnen de inclusiecriteria van een gefinancierde trial vallen.

Onlangs was ik op bezoek in een plattelandsziekenhuis in Zambia. Bij dit ziekenhuis hoort een researchlaboratorium dat onderzoek doet naar malaria en tuberculose. Over dit laboratorium zal ik het hier niet hebben: ik ga het hebben over het *ziekenhuislaboratorium* waar diagnostiek wordt verricht voor patiënten die *niet* binnen een trial vallen.

Correspondentieadres: E.C. Bowles, arts-microbioloog, Gelre ziekenhuizen Apeldoorn/Zutphen, e-mail: e.bowles@gelre.nl



Leerling-verpleegkundigen die op het laboratorium stage lopen, maken een ZN-kleuring.

Dit ziekenhuislab is goed geoutilleerd. Het heeft faciliteiten voor kweek en resistentiebepaling en er is formatie voor vier laboranten. Op het moment zijn er echter maar twee in dienst. Zij werken om de beurt een week, inclusief bereikbaarheidsdienst 's nachts, en zijn vervolgens een week vrij. Ze zijn verantwoordelijk voor de klinische chemie, de hematologie en de microbiologie.

Op mijn eerste dag is de stoof leeg. Er worden niet vaak kweken aangevraagd door de klinici. Bij navraag blijkt dat zij vinden dat de uitslagen te lang op zich laten wachten en te weinig extra informatie geven. Bovendien twijfelen ze wel eens aan de betrouwbaarheid.

De volgende dag zijn er wel kweekaanvragen. Ik schrik van de manier waarop de kweken worden uitgevoerd: er zijn geen SOP's, resistentiebepalingen worden gedaan zonder McFarland-verdunning en zonder dat eerst het micro-organisme wordt gedetermineerd. De laborant geeft op het blote oog het oordeel 'gevoelig' of 'resistent'. Resultaten als: '*Grampositive cocci, vancomycin-sensitive*' voor een sputumkweek worden ongegeneerd naar de kliniek uitgeslagen. De onzinnigheid van deze uitslag wordt nog groter als je weet dat vancomycine in het ziekenhuis niet eens voorradig is.

Aan het begin van de middag verdwijnt de laborant naar een apart kamertje in het lab. Hier worden de CD4-bepalingen uitgevoerd voor de kliniek voor Anti-Retrovirale Therapie (ART-clinic): een goedgeorganiseerd programma waar op jaarbasis vele honderden aidspatiënten hun behandeling krijgen. De rest van de middag is de laborant hier druk mee. De diagnostiek van de opgenomen patiënten moet wachten tot de volgende dag. Bij navraag hoor ik dat de ART-clinic extern wordt gefinancierd en dat de laboranten extra worden betaald om de bepalingen te doen. Het is echter de bedoeling is dat dit *na* het gewone werk gebeurt, niet *in plaats van*!!

Ik bespreek mijn bevindingen met de manager *clinical care*. Hij schrikt ervan dat de situatie op het lab zó slecht is, maar hij is blij dat het nu boven tafel komt. In mijn verslag benoem ik een aantal punten waarmee hij aan de slag kan: de onderbezetting, de kwaliteit die ik eufemistisch '*substandard*' noem en de gebrekkige communicatie tussen laboratorium en kliniek. De aanbevelingen liggen voor de hand: zorgen voor voldoende bezetting en supervisie, SOP's (*Standard Operating Procedures*) maken, bijscholen, regelmatig contact tussen laboranten en klinici, regulering van de diagnostiek voor de ART-clinic.

We maken een plan om te proberen de bezetting weer op sterkte te krijgen en er zal extra aandacht zijn voor training en kwaliteit. Ik stel me beschikbaar voor onderwijs en technische assistentie via skype, e-mail of zo nodig ter plekke.

WIMM als marktplaats

In grote delen van de wereld is gebrek aan kennis en kunde op het gebied van medische microbiologie, terwijl infectieziekten belangrijke oorzaken zijn van morbiditeit en mortaliteit. Veel Nederlandse microbiologen zijn internationaal actief, maar zijn weinig op de hoogte van elkaars activiteiten. Anderen zouden graag een samenwerkingsverband opstarten of aanhaken bij een bestaand project. WIMM wil de contacten tussen geïnteresseerden faciliteren. De website (nvmm.nl/wimm) zal als 'marktplaats' fungeren van vraag en aanbod van projecten, kennis, *skills* en materialen. Er is een vrij toegankelijk deel van de site waar iedereen die geïnteresseerd is kan rondkijken. Het besloten deel is om redenen van privacy alleen toegankelijk voor NVMM-leden.

Oude pillen, nieuw gebruik? (Hydroxy)chloroquine in de behandeling van chronische Q-koorts

L. Wijnans, S. Simonian

Inleiding

Iedereen die ooit voor kortere of langere tijd in de tropen heeft gezeten, kent chloroquine, van oudsher een antimalariamiddel. Door wijdverspreide resistentie-ontwikkeling verliest chloroquine zijn plaats in de preventie en behandeling van malaria. Chloroquine heeft echter verschillende eigenschappen waardoor de inzetbaarheid breder is dan als antimalariamiddel alleen. Zo wordt chloroquine al geruime tijd gebruikt bij de behandeling van reuma en lupus, en is recentelijk ook onderzocht op bijvoorbeeld antivirale werking.¹ In de praktijk wordt chloroquine breder ingezet dan de registratie toelaat. Een voorbeeld hiervan is het gebruik in de behandeling van chronische Q-koorts veroorzaakt door de intracellulaire bacterie *Coxiella burnetii*.

Behandeling van Q-koortsinfectie

Een infectie met *C. burnetii* leidt in 40-50 procent van de mensen tot acute Q-koorts. In ongeveer vijf procent hiervan neemt de infectie een chronische vorm aan, dat zich voornamelijk als endocarditis manifesteert.² Bij chronische Q-koorts houdt *C. burnetii* zich schuil in het zure milieu van vacuolen van monocyten en macrofagen. Doxycycline is de aangewezen behandeling voor acute Q-koorts, maar als monotherapie niet in staat om chronische vormen te genezen, resulterend in de noodzaak van langdurige behandeling. Verschillende combinaties met doxycycline, onder meer met co-trimoxazol en rifampicin, zijn onderzocht en blijken een wisselend succes te hebben. Begin jaren 90 verschenen de eerste publicaties waarin de adjuverende eigenschap van chloroquine in de behandeling van chronische Q-koorts met doxycycline werd beschreven. In vitro is aangetoond dat chloroquine een versterkend effect heeft op de werkzaamheid van doxycycline door het verhogen van de intracellulaire pH.³ In de jaren hierop volgden slechts enkele case reports over patiënten met endocarditis die zijn behandeld met een combinatie van chloroquine en doxycycline. Er is meer gepubliceerd over de combinatie van hydroxychloroquine plus doxycycline, waaronder het enige bekende vergelij-

kende onderzoek. Hierin werd doxycycline plus hydroxychloroquine vergeleken met doxycycline plus ofloxacin.⁴ Uit de gegevens bleek dat de gemiddelde behandelingsduur beduidend korter was wanneer een patiënt met doxycycline plus hydroxychloroquine werd behandeld.

Chronische Q-koortsinfectie

Er is weinig bewijs voor de werkzaamheid van chloroquine plus doxycycline; beschikbare gegevens wijzen wel in de richting van een mogelijk grote winst voor patiënten met een chronische Q-koortsinfectie. De moeilijkheid bij het aantonen van de werkzaamheid van middelen bij zeldzame indicaties, zoals chronische Q-koorts, blijft het geringe aantal patiënten bij wie onderzoek kan worden gedaan.

In de LCI-richtlijn wordt aangegeven dat doxycycline plus hydroxychloroquine eerste keus is bij de behandeling van chronische Q-koorts. De Gezondheidsraad gaf in een brief van eind 2008 aan dat de combinatie met chloroquine een mogelijkheid was. Ook in verdere literatuur en richtlijnen lijken de twee wisselend te worden aangewezen. Zoals aangegeven is er over de werkzaamheid van beide vormen weinig bekend. Over de veiligheid van chloroquine en hydroxychloroquine is door jarenlang gebruik meer bekend.

Sinds de eerste meldingen in de jaren 50 is retinale toxiciteit van chloroquine veelvuldig beschreven. Chloroquine hoopt zich op in de retina, met mogelijke visusdaling als gevolg. Daarnaast veroorzaakt chloroquine enige opaciteit van de ooglens en vermindering in de lensaccommodatie. Ook over het gebruik van hydroxychloroquine zijn enkele

L. Wijnans, S. Simonian, namens de klinisch beoordelaars van de infectieziektgroep CBG
Correspondentieadres: Dr. B.C.G. Voordouw, klinisch hoofdbeoordelaar farmacotherapeutische groep IV (anti-infectiva), College ter Beoordeling van Geneesmiddelen, e-mail: ac.voordouw@cbg-meb.nl.

rapporten gepubliceerd over retinopathie en maculopathie, maar beduidend minder dan bij gebruik van chloroquine. Al met al is het algemeen geaccepteerd dat hydroxychloroquine de minder toxische variant is. Het risico op retinopathie bij doseringen van minder dan 3,0 mg/kg/dag chloroquine versus 6,5 mg/kg/dag hydroxychloroquine is zeer laag.⁵⁻⁸ Bij langdurige behandeling van patiënten met chronische Q-koortsinfectie zou hydroxychloroquine vanwege de lagere toxiciteit, de voorkeur verdienen boven chloroquine. Desalniettemin betreft het hier een niet-geregistreerde indicatie en is het van groot belang dat een goede afweging tussen werkzaamheid en schadelijkheid wordt gemaakt. Daarvoor is meer inzicht nodig in zowel de baten als de risico's van het toevoegen van (hydroxy)chloroquine aan doxycycline bij de behandeling van patiënten met chronische Q-koorts.

Literatuur

1. Rolain JM, et al. Recycling of chloroquine and its hydroxyl analogue to face bacterial, fungal and viral infections in the 21st century. *Int J Antimicrob Agents*. 2007;30:297-308.
2. Hartzell JD, et al. Q fever: epidemiology, diagnosis and treatment. *Mayo Clin Proc*. 2008;83:574-9 .
3. Raoult D, et al. Bactericidal effect of doxycycline associated with lysosomotropic agents on *Coxiella burnetii* in P388D1 cells. *Antimicrob Agents Ther*. 1990;34:1512-4.
4. Raoult D, et al. Treatment of Q fever endocarditis. *Arch Intern Med*. 1999;159:167-73.
5. Block JA. Hydroxychloroquine and retinal safety. *Lancet*. 1998;351(9105):771.
6. Easterbrook M. Screening for antimalarial toxicity: current concepts. *Can J Ophthalmol*. 2002;37:325-8.
7. Marmor MF, et al. Recommendations on screening for chloroquine and hydroxychloroquine retinopathy. *Ophthalmology*. 2002;109(7):1377-82.
8. Taylor W, et al. Antimalarial drug toxicity: a review. *Drug Safety*. 2004;27(1):25-61.

Q-koorts versus de media

Peter C. Wever

Onder de zaken die de meesten van ons niet hebben geleerd tijdens hun opleiding behoort onder meer het omgaan met de media. Dat geldt ook voor mij. Het is een van de aspecten van het vak die je door schade en schande leert. Gelukkig wordt onze afdeling hierin bijgestaan door een zeer adequate afdeling communicatie.

Vorig jaar juni heb ik de media benaderd door een brief te sturen naar de Volkskrant die als opiniestuk werd geplaatst in de zaterdageditie. De brief met als titel ‘Waarom lees je nergens: pas op Q-koorts?’ was in feite een uitlaatklep voor mijn toenemende verontwaardiging en verbazing over het gebrek aan aandacht voor de Q-koorts. De Mexicaanse griep stond – terecht – midden in de aandacht. Op de dag dat de griepandemie werd uitgeroepen, meldde het RIVM ook dat er in 2009 bij 1133 patiënten Q-koorts was vastgesteld. Daarmee was de Nederlandse Q-koorts-epidemie van 2009 de grootste epidemie ooit beschreven. De media, voor zover ze al over dat feit geïnformeerd waren, besteedden er geen enkele aandacht aan. Q-koorts was een regionaal – hooguit provinciaal – probleem.

Een opvallende ontwikkeling in 2009 was dat monitoring van sterfte aan infectieziekten tot nieuwsfeit werd verwerd. Zeker in het begin van de Mexicaanse griep-epidemie waren er dagelijkse updates op radio en televisie over het aantal sterfgevallen gerelateerd aan de ziekte. In de brief naar de Volkskrant schreef ik dat onbekend bleef hoeveel mensen als gevolg van Q-koorts waren overleden of op de intensivecareafdeling waren beland. Een paar dagen na publicatie van de brief speelde een journalist van het Brabants Dagblad de bal terug door te vragen of er al mensen aan Q-koorts waren overleden. Ik antwoordde dat er in het Jeroen Bosch Ziekenhuis ten minste twee patiënten aan Q-koorts waren overleden. Eerder die dag

had hij echter bij het ministerie van Volksgezondheid te horen gekregen dat er geen patiënten aan de ziekte waren overleden. De journalist had zijn controversie en het Brabants Dagblad opende de volgende dag de voorpagina met de kop ‘Q-koorts leidt al tot doden’. Zo was ook de sterfte aan Q-koorts tot nieuwsfeit verworden. De NOS haakte in op het onderwerp en stuurde een cameraploeg naar het ziekenhuis met dezelfde vraag. Later die dag kwam het RIVM naar buiten met het bericht dat er vier mensen aan Q-koorts waren overleden.

Op dat moment leek het dat Q-koorts de aandacht zou krijgen die het verdiende. Leek ... want de volgende ochtend openden alle kranten met foto's van Michael Jackson en verdween Q-koorts weer op de achtergrond. Zes maanden en duizend ziektegevallen later kreeg Q-koorts alsnog de verdiende aandacht door de kritische uitzending van Zembla. Deze uitzending is ondertussen genomineerd voor ‘De Tegel 2009’, een prijs voor journalistiek in dag- en weekbladen, radio, televisie en multimedia. In de nasleep van hun uitzending vertelden de programmamakers van Zembla dat ze met hun uitzending een zogenoemde ‘scoop’ hadden. Het Engelse woord *scoop* laat zich vertalen als ‘primeur’. Een opmerkelijke woordkeus in het licht van het feit dat op het moment van de uitzending Q-koorts in drie jaar tijd al bij bijna 3500 mensen was vastgesteld.

Correspondentieadres: Dr. Peter C. Wever, arts-microbioloog,
Regionaal Laboratorium Medische Microbiologie en Infectiepreventie,
Jeroen Bosch Ziekenhuis, Den Bosch, e-mail: p.wever@jbz.nl.

Verslag ECCMID 2010

E. Heikens

Trefwoorden: ECCMID 2010, pneumokokkensurveillance

Inleiding

Van zaterdag 10 april tot en met dinsdag 13 april 2010 vond het *European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* (ECCMID) plaats in Wenen. Tijdens dit congres werden vele interessante onderzoeken gepresenteerd, workshops gegeven en symposia gehouden. Tijdens het symposium *The year in infectious diseases* werd een overzicht gegeven van belangrijke artikelen uit het jaar 2009-2010. De hoogtepunten van dit congres betroffen met name gepresenteerde onderzoeken over pneumokokken, ESBL, MRSA, *Clostridium difficile*, nieuwe influenza-A (H1N1), diagnostiek van bacteriële sepsis en de nieuwe mogelijkheden binnen het microbiologisch laboratorium. In dit verslag wordt een aantal onderzoeken met betrekking tot de onderwerpen 'pneumokokken' en 'nieuwe mogelijkheden binnen het microbiologisch laboratorium' in het kort beschreven. Daarnaast worden aan het einde van dit verslag de artikelen, gepresenteerd in het symposium *The year in infectious diseases*, weergegeven.

Nieuwe mogelijkheden binnen het microbiologisch laboratorium

Naar verwachting zullen binnen het microbiologisch laboratorium *genomics*- en *proteomics*-technologieën als DNA-sequentieanalyse en massaspectrometrie, een steeds belangrijkere plaats innemen. Deze nieuwe en snelle technieken kunnen een belangrijke bijdrage leveren aan de diagnostiek en de conventionele kweek voor een (groot) deel vervangen. In het symposium getiteld *Future high-throughput microbiology laboratory* werden deze nieuwe technologieën besproken. Allereerst presenteerde Tetsuya Lida (Osaka, Japan; abstract nr. S203) de mogelijkheden met betrekking tot DNA-sequentieanalyse van gehele genomen. Het direct detecteren van micro-organismen via DNA-sequentieanalyse is reeds mogelijk in verschillende patiëntenmaterialen als sputum, bloed en feces. De bewerking van het patiëntenmateriaal neemt één dag in beslag, het sequencen tien uur en het analyseren van de DNA-sequentie ongeveer twee uur. Met deze methode kan een breed scala aan micro-organismen als bacteriën, virussen, schimmels en parasieten worden gedetecteerd.

Al met al een zeer snelle methode om micro-organismen uit verschillende patiëntenmaterialen te detecteren. Een ander groot voordeel van DNA-sequentieanalyse van het hele genoom is de grote hoeveelheid informatie die wordt verkregen met deze techniek. Naast identificatie is informatie over typering, virulentie en antibioticaresistentie te verkrijgen. Nu wordt deze informatie verkregen via het uitvoeren van meerdere testen. Ondanks deze grote voordelen zal DNA-sequentieanalyse van het gehele genoom naar verwachting niet snel worden ingevoerd in de routine laboratoriumdiagnostiek vanwege de hoge kosten die hiermee gemoeid gaan. Op dit moment worden de kosten geschat op zo'n tweehonderd euro per analyse. Een ander nadeel van DNA-sequentieanalyse is dat onbekende bacteriën niet zullen worden geïdentificeerd. De verkregen DNA-sequentie wordt vergeleken met reeds bekende DNA-sequenties die zijn opgeslagen in een genoombank als GenBank. Onbekende of nieuwe micro-organismen kunnen daarom mogelijk niet worden herkend.

Van *genomics* werd vervolgens door Xavier Nassif (Parijs, Frankrijk; S204) overgegaan naar de mogelijkheden van *proteomics*-technologieën binnen het microbiologisch laboratorium. Vanwege zijn gevoeligheid, snelheid en automatisering vormt massaspectrometrie, oftewel MALDI-TOF MS, een belangrijke techniek om eiwitten te analyseren en te identificeren. Aangezien ieder micro-organisme een specifieke set aan eiwitten synthetiseert, kunnen met behulp van deze techniek micro-organismen worden geïdentificeerd. Het grote voordeel van MALDI-TOF MS is de snelheid waarmee identificatie plaatsvindt. Een kolonie wordt aangebracht op een *sample target*, waarna binnen twintig minuten de uitslag bekend is. Uit recent onderzoek blijkt dat MALDI-TOF MS-analyse ook direct kan worden uitgevoerd op positieve bloedkweken. In plaats van een kolonie wordt een hoeveelheid bloed aangebracht, waardoor de techniek

Correspondentieadres: mw. dr. E. Heikens, afdeling Medische Microbiologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht, e-mail: e.heikens@umcutrecht.nl

nog meer aan snelheid wint. Hierbij moet wel worden opgemerkt dat identificatie faalt indien er sprake is van een positieve bloedkweek met meerdere bacteriën. Bij deze techniek is geen specifieke kennis van microbiologie nodig door de uitvoerende persoon. Dit kan als voordeel worden gezien maar ook als nadeel. Een persoon zonder microbiologische kennis zal een foute identificatie eerder als goed kunnen interpreteren. Een ander groot voordeel van de MALDI-TOF MS is de betaalbaarheid van deze nieuwe technologie. Naast de vele voordelen zitten er echter ook nadelen aan deze techniek. Zo is de MALDI-TOF MS tot nu toe alleen te gebruiken voor de identificatie van bacteriën. Tevens kunnen niet alle bacteriën even goed worden geïdentificeerd. De MALDI-TOF MS heeft vooral problemen met de identificatie van enterokokken en streptokokken. Net als bij DNA-sequentieanalyse bestaat ook bij deze techniek de kans dat onbekende micro-organismen niet worden herkend, aangezien het eiwitspectrum wordt vergeleken met reeds bekende eiwitspectra die zijn opgeslagen in een *proteomics*-bank.

In het symposium getiteld *New horizons in the diagnosis of bacterial sepsis* werd de plaats van PCR, wel of niet gevolgd door DNA-sequentieanalyse, in de diagnostiek van bacteriële sepsis gepresenteerd. Christina Vandenbroucke-Grauls (Amsterdam; S63) en Klaus-Peter Hunfeld (Frankfurt, Duitsland; S64) presenteerden resultaten van de introductie van moleculaire technieken bij het detecteren van DNA in de bloedbaan bij patiënten met een bacteriële sepsis. Recent is naar voren gekomen dat de aanwezigheid van bacterieel DNA in de bloedbaan is geassocieerd met de ernst en de uitkomst van bloedstroominfecties. Met behulp van DNA-hybridisatie, specifieke PCR's gericht op een enkel pathogeen of breed opgezette PCR's gevolgd door DNA-sequentieanalyse verwacht men in de toekomst op een snellere manier dan met de kweek de verwekker aan te kunnen tonen. Hoewel deze moleculaire technieken zeer veelbelovend zijn, moet wel worden opgemerkt dat nog weinig bekend is over de kinetiek en klinische en therapeutische relevantie van bacterieel DNA in de bloedbaan bij patiënten met een sepsis. PCR detecteert DNA in plaats van levende pathogenen, er is altijd risico op contaminatie en er is nog weinig bekend over de achtergrond van DNA in de bloedbaan.

Pneumokokken

Naast de implementatie van nieuwe technieken binnen het microbiologisch laboratorium was er bijzondere aandacht voor pneumokokken. In het bijzonder voor de distributie van de verschillende pneumokokkenserotypen voor en na de invoering van de verschillende vaccins en de toenemende resistentie van pneumokokken. Afhankelijk van de ernst en het onderliggend lijden gaan pneumokokkeninfecties vaak gepaard met aanzienlijke morbiditeit

en mortaliteit. De WHO schat dat er jaarlijks één miljoen kinderen jonger dan vijf jaar sterven als gevolg van een pneumokokkeninfectie. Bij volwassenen neemt de incidentie toe met de leeftijd en vooral bij ouderen boven 65 jaar neemt deze snel toe. Het bestaan van meer dan 90 verschillende serotypen maakt het moeilijk een goed vaccin te ontwikkelen. In 1983 werd het 23-valente polysaccharidenpneumokokkenvaccin (PS23; tabel 1) geïmplementeerd. Dit vaccin biedt goede bescherming tegen invasieve pneumokokkeninfecties bij volwassenen. Bij kinderen is dit vaccin minder immunogeen en daarmee minder beschermend. In 2000 werd een nieuw vaccin ontwikkeld, het 7-valente pneumokokkenconjugaatvaccin (PCV7; tabel 1), dat wel goede bescherming biedt tegen invasieve pneumokokkeninfecties bij kinderen. Dit vaccin wordt inmiddels wereldwijd gebruikt bij zuigelingen. De laatste jaren worden steeds meer infecties gezien met niet-vaccin-serotypen, met andere woorden serotypen waartegen het vaccin geen bescherming biedt. In 2010 heeft men daarom een nieuw vaccin ontwikkeld, het 13-valente pneumokokkenconjugaatvaccin (PCV13; tabel 1).

Tabel 1. Vaccin serotypen

	VACCINSEROTYPEN
PS23	1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, 33F
PCV7	4, 6B, 9V, 14, 18C, 23F, 19F
PCV13	1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 23F, 19A, 19F

Community-acquired pneumonia

Tijdens de sessie *Community-acquired pneumonia* presenteerde Pontus Naucler (Stockholm, Zweden, O571), dat bepaalde pneumokokkenserotypen vaker een invasieve ziekte veroorzaken dan andere serotypen. Zo werden de serotypen 1 en 7 geassocieerd met een hoog vermogen tot het veroorzaken van een invasieve pneumokokkenziekte, serotypen 4, 9, 14 en 18 met een gemiddeld vermogen en serotypen 3, 6A, 6B, 8, 15, 19, 33 en 38 met een laag vermogen tot het veroorzaken van een invasieve pneumokokkenziekte. Vervolgens werd gekeken naar de mortaliteit voor elk serotype, 30 dagen na het ontstaan van een invasieve pneumokokkenziekte. Het bleek dat pneumokokkenserotypen behorende tot de groep met een laag vermogen tot invasieve pneumokokkenziekte zijn geassocieerd met de hoogste mortaliteit (12,8 procent), gevolgd door serotypen met een gemiddeld invasief vermogen (8,6 procent) en serotypen met een hoog invasief vermogen (4,9 procent). Patiënten die zijn geïnfecteerd met serotypen met een laag invasief vermogen, waren echter ouder, werden vaker gediagnosticeerd met meningitis, hadden vaker een chronische ziekte en waren vaker immuun gecompromitteerd.

In dezelfde sessie presenteerde Susanne Huijts (Utrecht; O570) resultaten over het voorkomen van pneumokokken-serotypen bij volwassenen met een pneumokokken-CAP (*community-acquired pneumonia*) met als doel de dekking van de PCV7-, PCV13- en PS23-vaccins te bepalen. In dit prospectieve, observationele onderzoek in 23 ziekenhuizen in Nederland werden mensen ouder dan 18 jaar met een klinisch verdachte CAP geïncludeerd van januari 2008 tot en met maart 2009. Pneumokokken-CAP werd gedefinieerd als de aanwezigheid van klinische criteria voor CAP, radiologische bevestiging en de isolatie van pneumokokken uit bloed of sputum, of een positieve urineantigeentest. Van de 1785 geïncludeerde patiënten voldeden 1132 patiënten aan de criteria van een CAP, waarvan 205 werden veroorzaakt door pneumokokken. Vijfenzeventig bacteriëmie-isolaten werden geserotypeerd. Serotypen 14, 7F, 19A en 22F kwamen het meest voor. De dekking van de verschillende vaccins zou 30 procent zijn voor PCV7, 67 procent voor PCV13 en 93 procent voor PS23. Op dit moment wordt het PCV13-vaccin onderzocht in een groot gerandomiseerd, dubbelblind, placebogecontroleerd onderzoek, het CAPiTA-onderzoek, beschreven in het vorige nummer van het *Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie* (NTMM).

Naast verschillende symposia en mondelinge sessies waren er veel posters over pneumokokken. Zo presenteerde Meredith Hackel (Schaumburg, Verenigde Staten; poster nr. P2024) via een poster een onderzoek waarin 275 invasieve pneumokokkenisolaten, verkregen in de VS in 2004 bij zowel kinderen als volwassenen, werden geserotypeerd (tabel 2).

De resultaten laten zien dat ongeveer 20 procent van de pneumokokkenisolaten van het PCV7-serotype waren. Onder volwassenen en kinderen was het percentage dragerschap PCV7-serotypen gelijk. Serotype-19A was het meest voorkomende serotype. Dit serotype wordt niet gedekt door PCV7 en is vaak geassocieerd met resistentie voor penicilline en erytromycine, wat een reden tot bezorgdheid geeft.

Antibioticaresistentie van pneumokokkenisolaten

Naast de grote aandacht voor pneumokokkensurveillance en de dekking van de verschillende vaccins was er bijzondere aandacht voor antibioticaresistentie onder pneumokokkenisolaten. Zo presenteerde Chris Pillar (Chantilly, VS; P1687) via een poster een onderzoek

waarbij 1790 pneumokokkenisolaten, verzameld van 2006 tot 2009 en afkomstig uit zes verschillende Europese landen, werden onderzocht op gevoeligheid voor verschillende antibiotica. De gevoeligheid voor antibiotica werd bepaald met de bouillon-microdilutiemethode conform de CLSI-richtlijnen. Er werd een afname in gevoeligheid voor claritromycine, cefuroxim en tetracycline en een toename in penicillineresistentie waargenomen bij de pneumokokkenisolaten afkomstig van kinderen (< 17 jaar). De pneumokokkenisolaten, afkomstig van zowel kinderen als volwassenen, bleven gevoelig voor levofloxacin (> 98 procent gevoelig) en amoxicilline (> 95 procent gevoelig). Karen Green (P1676) presenteerde namens het *Canadian Bacterial Surveillance Network* (CBSN) een poster waarin de antibioticagevoeligheid van 13.868 pneumokokkenisolaten, verzameld in Canada van 1993 tot en met november 2009, werd beschreven. De gevoeligheid voor antibiotica werd eveneens met behulp van de bouillon-microdilutiemethode getest conform de richtlijnen van de CLSI (tabel 3).

Er werd een toename gezien in resistentie voor penicilline, amoxicilline, ceftriaxon, erytromycine, trimethoprim/sulfa en tetracycline. Gevoeligheid voor ciprofloxacine en levofloxacin veranderde nauwelijks en gevoeligheid voor moxifloxacin veranderde niet.

Concluderend werden er tijdens de ECCMID 2010 weer vele interessante en vernieuwende onderzoeken gepresenteerd. Ter afsluiting staan hier onder de referenties van de artikelen vermeld die in het symposium *The year in infectious diseases* door Robert Read (Sheffield, Verenigd Koninkrijk) en Günter Weiss (Innsbruck, Oostenrijk) werden gepresenteerd.

Artikelen gepresenteerd in het symposium *The year in infectious diseases*

1. Sabuncu E, et al. Significant reduction of antibiotic use in the community after a nationwide campaign in France, 2002-2007. *PLoS Med.* 2009;6(6):e1000084.
2. Bouadma L, et al. Use of procalcitonin to reduce patients' exposure to antibiotics in intensive care units (PRORATA trial): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet.* 2010;375:463-74.
3. Lowy I, et al. Treatment with monoclonal antibodies against *Clostridium difficile* toxins. *N Engl J Med.* 2010;362:197-205.
4. Bode LG, et al. Preventing surgical-site infections in nasal carriers of *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med.* 2010;362:9-17.

Tabel 2. Serotypering van 275 invasieve pneumokokken isolaten verzameld in de VS in 2004.

	TOTAAL N	PCV7-SEROTYPEN N (%)	NIET-PCV7 SEROTYPEN, N (%)						
			19A	6A	3	22F	15	7	OVERIG
Kinderen	46	9 (20)	13 (28)	3 (7)	2 (4)	3 (7)	0 (0)	4 (9)	12 (26)
Volwassenen	230	50 (22)	38 (17)	9 (4)	15 (7)	13 (6)	10 (4)	10 (4)	85 (37)

Tabel 3. Antibiotica-gevoeligheid van 13.868 pneumokokkenisolaten verzameld in Canada tussen 1993 en 2009

	RESISTENTIE (%)																
	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Pen NS	5,7	8,1	8,8	11,9	13,6	15,0	13,4	12,3	14,4	15,2	14,9	14,8	15,3	15,3	17,2	16,6	22,0
Pen R	0,9	1,3	2,2	4,1	6,6	5,7	5,9	5,9	6,8	6,6	6,2	5,4	4,8	6,3	4,6	6,5	8,8
Amox R	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,2	0,1	0,5	0,6	1,1	1,1	1,1	1,4	1,6	2,1	3,5
Eryth R	1,9	3,4	3,2	4,8	6,8	10,5	9,8	11,2	12,8	14,2	15,9	18,0	19,1	19,4	22,5	21,2	25,3
Clinda R	0,0	1,7	1,3	2,4	3,6	5,1	4,4	5,5	5,8	6,5	7,4	8,1	8,2	8,6	9,7	8,5	11,3
T/S R	3,8	4,7	9,7	12,7	14,6	12,3	12,0	11,3	12,0	13,2	13,3	13,5	12,2	11,8	12,0	11,3	14,1
Tet R	1,4	2,3	3,4	2,5	6,4	9,1	7,1	5,5	9,1	9,6	9,7	10,9	10,4	11,2	13,1	9,8	12,7
Ceftr R (M)	0,0	0,2	0,1	0,7	1,3	2,5	1,5	2,0	2,4	1,5	1,8	2,5	1,9	3,7	2,9	3,3	5,4
Ceftr R (NM)	0,0	0,0	0,0	0,2	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2	0,9
Cipro R*	0,5	0,8	0,7	0,8	1,8	1,8	1,6	1,4	2,1	2,7	1,8	2,0	2,4	2,7	2,0	2,2	2,3
Levo R	0,0	0,4	0,1	0,2	0,5	0,3	0,4	0,9	1,2	1,9	1,2	1,5	1,5	1,7	1,2	1,5	1,6
Moxi R	NT	NT	0,0	0,0	0,3	0,2	0,2	0,4	0,4	0,3	0,4	0,6	0,7	0,9	0,7	0,7	0,5

*Breekpunt gebruikt voor gereduceerde gevoeligheid $\geq 4 \mu\text{g/ml}$; NT = niet getest; M = meningale breekpunt; NM = niet-meningale breekpunt

- Dondorp AM, et al. Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *N Engl J Med.* 2009;361:455-67.
- Echevarría-Zuno S, et al. Infection and death from influenza A H1N1 virus in Mexico: a retrospective analysis. *Lancet.* 2009;374:2072-9.
- Perez-Padilla R, et al. Pneumonia and respiratory failure from swine-origin influenza A (H1N1) in Mexico. *N Engl J Med.* 2009;361:680-9.
- Garten RJ, et al. Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza viruses circulating in humans. *Science.* 2009;325:197-201.
- Morens DM, et al. The persistent legacy of the 1918 influenza virus. *N Engl J Med.* 2009;361:225-9.
- Jain S, et al. Hospitalized patients with 2009 H1N1 influenza in the United States, April-June 2009. *N Engl J Med.* 2009;361:1935-44.
- Domínguez-Cherit G, et al. Critically ill patients with 2009 influenza A(H1N1) in Mexico. *JAMA.* 2009;302:1880-7.
- Jamieson AM, et al. Influenza virus-induced glucocorticoids compromise innate host defense against a secondary bacterial infection. *Cell Host Microbe.* 2010;7:103-14.
- Ng S, et al. Effects of oseltamivir treatment on duration of clinical illness and viral shedding and household transmission of influenza virus. *Clin Infect Dis.* 2010;50:707-14.
- Kawai N, et al. Clinical effectiveness of oseltamivir and zanamivir for treatment of influenza A virus subtype H1N1 with the H274Y mutation: a Japanese, multicenter study of the 2007-2008 and 2008-2009 influenza seasons. *Clin Infect Dis.* 2009;49:1828-35.
- Linde A, et al. Does viral interference affect spread of influenza? *Euro Surveill.* 2009;14:19354.
- Casalegno JS, et al. Rhinoviruses delayed the circulation of the pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus in France. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16:326-9.
- Khaitov MR, et al. Respiratory virus induction of alpha-, beta- and lambda-interferons in bronchial epithelial cells and peripheral blood mononuclear cells. *Allergy.* 2009;64:375-86.
- Jensen DM, et al. Re-treatment of patients with chronic hepatitis C who do not respond to peginterferon-alpha2b: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2009;150:528-40.
- Thomas DL, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature.* 2009;461:798-801.
- Chen Y, et al. Asymptomatic reactivation of JC virus in patients treated with natalizumab. *N Engl J Med.* 2009;361:1067-74.
- Palella FJ Jr, et al. The association of HIV susceptibility testing with survival among HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy: a cohort study. *Ann Intern Med.* 2009;151:73-84.
- Abdool Karim SS, et al. Timing of initiation of antiretroviral drugs during tuberculosis therapy. *N Engl J Med.* 2010;362:697-706.
- Sterne JA, et al. Timing of initiation of antiretroviral therapy in AIDS-free HIV-1-infected patients: a collaborative analysis of 18 HIV cohort studies. *Lancet.* 2009;373:1352-63.
- Shuman EK. Global climate change and infectious diseases. *N Engl J Med.* 2010;362:1061-3.
- Meersseman W, et al. Significance of the isolation of *Candida* species from airway samples in critically ill patients: a prospective, autopsy study. *Intensive Care Med.* 2009;35:1526-31.
- Roux D, et al. *Candida albicans* impairs macrophage function and facilitates *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in rat. *Crit Care Med.* 2009;37:1062-7.
- Debarbieux L, et al. Bacteriophages can treat and prevent *Pseudomonas aeruginosa* lung infections. *J Infect Dis.* 2010;201:1096-1104.
- Crawford RW, et al. Gallstones play a significant role in *Salmonella* spp. gallbladder colonization and carriage. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107:4353-8.
- Schlagenhauf P, et al. Sex and gender differences in travel-associated disease. *Clin Infect Dis.* 2010;50:826-32.

Dit verslag is tot stand gekomen met hulp van Debby Bogaert (Afdeling Kinder Immunologie, UMC Utrecht-WKZ).

Medische microbiologie in de toekomst

Verslag wetenschapssymposium van de NVAMM,
11 maart j.l.

M. Kolader, A.K. van der Bij, J. Hopman, S.Q. van Veen

Wat brengt de medische microbiologie ons in de toekomst? Zal de microscoop uit het laboratorium verdwijnen? Hoe zit het met de automatisering van het lab? Welke methoden zijn in ontwikkeling die bijdragen aan een snellere determinatie van micro-organismen? Welke nieuwe (pathogene) micro-organismen zijn er recent ontdekt? Hoe gaan we om met bacteriën die in toenemende mate resistent worden of virussen die zo snel muteren dat behandelopties opraken? Hoe gaan we om met de marktwerking in ons vakgebied en wat betekent dit voor onze positie binnen het ziekenhuis als ondersteunend specialisme?

Bovenstaande vragen en onderwerpen kwamen aan bod tijdens het jaarlijkse wetenschapssymposium op 11 maart 2010 in het KNAW-gebouw in Amsterdam, georganiseerd door de wetenschapscommissie van de Nederlandse Vereniging voor Arts-Assistenten Medische Microbiologie (NVAMM). De actualiteit van de onderwerpen en presentaties werd bevestigd door het hoge aantal inschrijvingen. In dit artikel leest u een beknopt verslag van het symposium.

Bacteriële resistentie en behandeling

De ochtend begon met een voordracht van Johan Mouton (Nijmegen) over klinisch onderzoek naar de farmacokinetiek en -dynamiek van antibiotica. Hij trachtte over te brengen dat antibiotische gevoeligheid van bacteriën in een ander daglicht zouden moeten worden bekeken, waarbij veel meer nadruk zou moeten worden gelegd op de fractie AUC/MIC. Hieruit zou men kunnen concluderen dat bacteriën met een hogere MIC, met hogere doses antibiotica zouden moeten worden behandeld, mits de veiligheid en de bijwerkingen van het antibioticum dit toelaten.

De presentatie van professor Timothy Walsh (Cardiff) was een pleidooi voor het opsporen, herkennen en onderscheiden van de verschillende klassen multiresistente gramnegatieve bacteriën, naast het ontwikkelen en onderhouden van een goed antibioticus beleid. Hij gaf daarnaast een informatief overzicht van de verschillende klassen ESBL's en carbapenemases. Na de koffiepauze sprak professor Peter Simmonds (Edinburgh) over de

vlucht die de ontdekkingen binnen virologie de laatste jaren heeft genomen: door het toepassen van nieuwe moleculaire technieken zijn 'oude' virussen opnieuw ontdekt en die nu worden geassocieerd met ziekte bij de mens. Ook nieuwe virussen worden ontdekt, waarvan de klinische betekenis nu nog niet duidelijk is.

Nieuwe pathogenen en determinatietechnieken.

In dezelfde sessie over nieuwe pathogenen en nieuwe diagnostische technieken sprak dr. Colin Ingham van *Microdish* (Wageningen) over nieuwe kweekmethoden op een poreuze aluminiumoxideplaat met *microwells*, waarop sneller kolonies zichtbaar zijn dan met de conventionele kweektechnieken. Hierdoor kan het determinatieproces, in het bijzonder voor langzaam groeiende bacteriën, worden versneld. Ervaring met snellere determinatie van bacteriën is in Leiden opgedaan met de Maldi-tof-techniek. Dr. Ed Kuijper gaf uitleg over de achterliggende techniek, de snelheid en de accuraatheid van deze methode.

Behandeling in de toekomst

Twee interessante presentaties werden na de lunch gehouden in de sessie over de behandeling van de toekomst. Als eerste vertelde professor Ben Berkhout over de achtergrond van RNAi, en de mogelijke toepasbaarheid van deze techniek in de toekomst bij chronische infectieziekten als hiv. Bij deze vorm van gentherapie in ontwikkeling worden hematopoëtische voorlopercellen resistent gemaakt tegen hiv. Dr. Eef-Jan Breunkink (Utrecht) weidde uit over ribosomaal gesynthetiseerde peptiden (uit bacteriën, lactobacillen, actinomyceten) met een antimicrobiële werking, L-antibiotica. Een aantal van deze peptiden lijkt veelbelovende werkingsmechanismen te hebben.

Namens de wetenschapscommissie: A.K. van der Bij, J. Hopman, M. Kolader en S.Q. van Veen
Correspondentieadres: S.Q. van Veen, Leids Universitair Medisch Centrum, e-mail s.q.van_veen@lumc.nl

Het lab van straks

In de laatste sessie, getiteld *Microbiologische laboratoria in de toekomst*, kwamen de laboratoriummanagement en schaalvergroting ter sprake. Dr. Ed IJzerman (Haarlem) deed verslag van zijn ervaringen in een gecentraliseerd laboratorium. In dit laboratorium is ervoor gekozen gebruik te maken van een geautomatiseerd systeem waarbij kweekresultaten digitaal worden vastgelegd, zodat deze op afstand kunnen worden geïnterpreteerd en eventuele aanpassingen in het uitwerken niet per se op het lab zelf hoeft te worden gedaan. Welke invloed heeft dit op de logistiek, op de kosten van de kweken, etc.

De voordracht van dr. Berry Overbeek (Groningen) ging behalve over schaalvergroting en technologische vernieuwingen in het laboratorium, ook over de mogelijkheden en bedreigingen die deze ontwikkelingen kunnen hebben voor de arts-microbioloog. Hoe om te gaan met laboratoria die alleen uitslagen produceren? Professor Paul Verweij (Nijmegen) sprak in detail over het organisatorisch veranderingsproces dat in 2009 in het UMC St Radboud Nijmegen heeft plaatsgevonden en welke invloed dat heeft gehad en nog heeft op de afdeling medische microbiologie: het maken van bedrijfsplannen, rechtstreeks verantwoordelijk zijn voor afdelingsbudgetten en dergelijke. De arts-microbioloog wordt meer manager van een

laboratoriumbedrijf. Concurrerende positie ontwikkelen ten opzichte van andere laboratoria, samenwerkingsverbanden aangaan met andere (kleinere) ziekenhuizen zonder laboratorium, services aanbieden aan de verschillende afdelingen binnen het ziekenhuis, inclusief prijsafspraken, zullen zorgen dat de arts-microbioloog in de toekomst zijn positie onder de loep moet nemen.

De sessie werd afgesloten met een discussie waarin professor Christina Vandenbroucke de laatste drie sprekers van de dag vroeg hun mening te geven over de veranderende positie van artsen-microbioloog in de nabije toekomst met de invloed van marktwerking, financiële beperkingen, aanbod van laboratoria die alleen uitslagen produceren zonder interpretatie, etc. Tijdens de borrel werd teruggekeken op deze dag.

De organisatie heeft gemeend zoveel mogelijk interessante sprekers uit te nodigen die meer informatie konden geven en een mening hadden over onderwerpen die ons vakgebied in de (nabije) toekomst gaan veranderen. Gezien de opkomst en de terugkoppeling lijkt ons dat het NVAMM Wetenschapssymposium dit jaar wederom als een succes mag worden beschouwd. Met veel dank aan de sponsors, de voorzitters van de verschillende sessies en aan alle andere aanwezigen; deze dag is met jullie hulp mogelijk gemaakt.

Samen voor ons eigen

P.W.M. Hermans

Rede uitgesproken door prof. dr. P.W.M. Hermans bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar Kindergeneeskunde in het bijzonder de Moleculaire Infectiologie aan het UMC St Radboud van de Radboud Universiteit te Nijmegen op 13 maart 2009.

Meneer de rector magnificus, dames en heren,

Bij het lezen van de titel van mijn oratie hebben de oudere jongeren onder ons ongetwijfeld een *Aha-Erlebnis* gehad. De uitspraak 'Samen voor ons eigen', een *contradictio in terminis*, werd in 1979 geïntroduceerd door de Haagse vrije jongens Jacobse en Van Es, twee spraakmakende typetjes van de Nederlandse cabaretiers Kees van Kooten en Wim de Bie. 'Samen voor ons eigen' was een agendapunt in het verkiezingsprogramma van De Tegenpartij, een fictieve politieke partij met sterk rechts-populistische ideeën en met Jacobse en Van Es aan het roer. Inmiddels staat de uitspraak 'Samen voor ons eigen' algemeen synoniem voor politiek populisme.

Ik gebruik de uitspraak 'Samen voor ons eigen' als metafoor voor de moleculaire infectiologie, mijn leeropdracht waarover ik deze middag zal uitwijden. De moleculaire infectiologie bestudeert de interactie, het samenspel tussen gastheer, de patiënt en pathogeen, het ziekmakende micro-organisme. Deze interactieve relatie

wordt eveneens gekenmerkt door zowel altruïstisch als egoïstisch gedrag van beide partijen.

Infectieziekten zijn een belangrijke oorzaak van sterfte

Infectieziekten zijn een belangrijke oorzaak van sterfte. De Wereldgezondheidsorganisatie meldt dat op het totale aantal sterfgevallen in de wereld, dat geschat wordt op circa 60 miljoen per jaar, ongeveer een kwart door infecties wordt veroorzaakt: één op de vier mensen overlijdt dus aan een infectieziekte. De moleculaire infectiologie is een specifieke tak van wetenschap binnen de infectiologie. De moleculaire interactie tussen gastheer en pathogeen, ook wel de moleculaire pathogenese genoemd, staat hierbij centraal. Zowel de individuele componenten en structuren van de pathogeen als die van de gastheer worden in detail bestudeerd om wetenschappelijk inzicht te krijgen in de moleculaire processen tijdens infectie. Binnen mijn onderzoek spelen de gastheer-pathogeeninteracties tijdens luchtweginfecties bij kinderen een centrale rol. Het betreft translationeel onderzoek dat ik in nauwe samenspraak

Correspondentieadres: Prof. dr. P.W.M. Hermans, hoogleraar Kindergeneeskunde - in het bijzonder de Moleculaire Infectiologie, UMC St Radboud, Laboratorium Kindergeneeskunde-Infectieziekten, huispost 224, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen, email: P.Hermans@cukz.umcn.nl

Figuur 1. Transitioneel onderzoek en valorisatie van kennis



uitvoer met de subafdeling Pediatrische Infectieziekten en Immunologie van het UMC St Radboud. Samenwerking tussen kliniek en laboratorium is hierbij een belangrijk uitgangspunt aangezien de patiëntenzorg bepalend is voor de richting van het onderzoek. De wetenschappelijke kennis en vaardigheden, ontwikkeld binnen onze onderzoekslijn, worden in een continu uitwisselings- en samenwerkingsproces afgestemd op klinische vraagstellingen aangedragen door de kinderartsen van het UMC St Radboud. Daarnaast kunnen innovatieve vondsten belangrijke nieuwe inzichten verschaffen met betrekking tot het begrijpen en behandelen van aandoeningen. Zo wordt gewaarborgd dat het onderzoek uiteindelijk ten goede komt aan kinderen met ernstige infecties (figuur 1).

Wetenschappelijk onderzoek

Het microbiële paradigma binnen ons laboratorium is de *Streptococcus pneumoniae*, ook wel de pneumokok genoemd, de veroorzaker van diverse infecties zoals middenoorontsteking, longontsteking, bloedvergiftiging en hersenvliesontsteking. Pneumokokken zijn eencellige micro-organismen, bacteriën, die onzichtbaar zijn voor het blote oog. Onder de microscoop zien zij eruit als twee in elkaar versmolten bolletjes met een doorsnee van ongeveer één micrometer. Aan deze vorm dankt de pneumokok zijn oorspronkelijke naam *Diplococcus*. De pneumokok is voor het eerst beschreven door Sternberg en Pasteur, onafhankelijk van elkaar, in 1881. Beide onderzoekers waren in staat konijnen te infecteren met menselijk speeksel en de pneumokok uit deze konijnen te isoleren en in het laboratorium te kweken (figuur 2).

U vraagt zich natuurlijk af: "Hoe kom ik eigenlijk aan een pneumokok?" Het antwoord ligt voor de hand: van familie, vrienden en collega's. De pneumokok wordt overgebracht van mens op mens via kleine druppels in de uitademingslucht, ook wel aerosolen genoemd. Aerosolen komen in grote hoeveelheden vrij tijdens een hoest- of niesbui, mechanismen die efficiënte overdracht in de hand spelen. Na binnenkomst nestelt de pneumokok zich in de neus-keelholte, de nasofarynx. Hier kan de bacterie enkele dagen tot enkele weken vertoeven. Gedurende deze periode

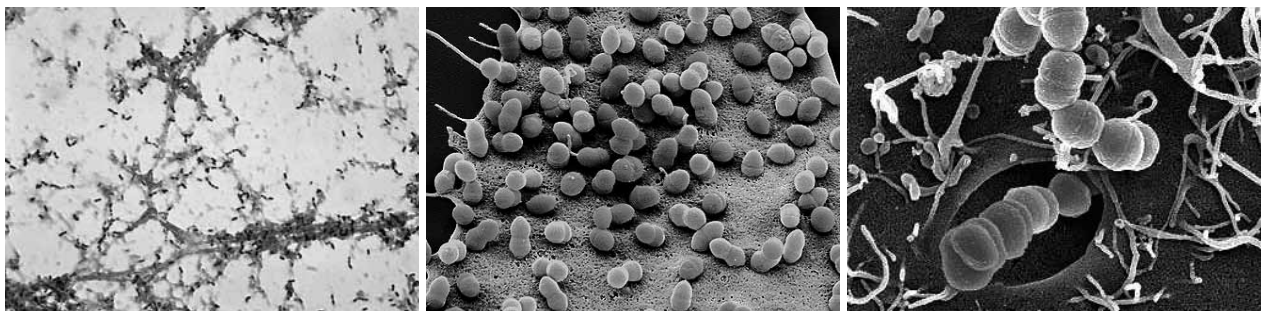
van asymptomatisch dragerschap is de besmette persoon niet ziek, heeft geen klinische symptomen, heeft geen last van de aanwezigheid van de pneumokok. De pneumokok maakt gebruik van de in de neus aanwezige voedingsstoffen, prikt een vorkje mee, vermenigvuldigt zich en verspreidt zich via aerosolen naar andere individuen. Intensief contact tussen individuen speelt snelle en efficiënte verspreiding in de hand. *Crowding* is dan ook een risicofactor voor pneumokokkendragerschap. Kinderen die kinderdagverblijven bezoeken, zo hebben wij in het verleden aangetoond, hebben om die reden een verhoogde kans op pneumokokkendragerschap. De prevalentie dragerschap bij kinderen in kinderdagverblijven is daarom significant hoger dan daarbuiten. Deze kan oplopen tot meer dan 50 procent; stelt u zich voor: één op de twee kinderen draagt in dat geval een pneumokok bij zich.

In vele gevallen wordt de pneumokok tijdens dragerschap met succes door het immuunsysteem van de gastheer aangepakt en opgeruimd. Mensen staan met grote regelmaat bloot aan pneumokokken, maar zijn veelal in staat om deze op efficiënte wijze binnen enkele dagen op te ruimen. Wanneer de pneumokok is opgeruimd, grijpen andere bacteriën zoals *Staphylococcus aureus* vaak hun kans. Debby Bogaert heeft tijdens haar promotieonderzoek aangetoond dat de aanwezigheid van pneumokokken in de neus-keelholte de kans op *S. aureus*-dragschap verkleint. Kennelijk heeft pneumokokkendragerschap een prettige bijkomstigheid voor de gastheer: andere bacteriële indringers worden buiten de deur, ik bedoel buiten de neus gehouden.

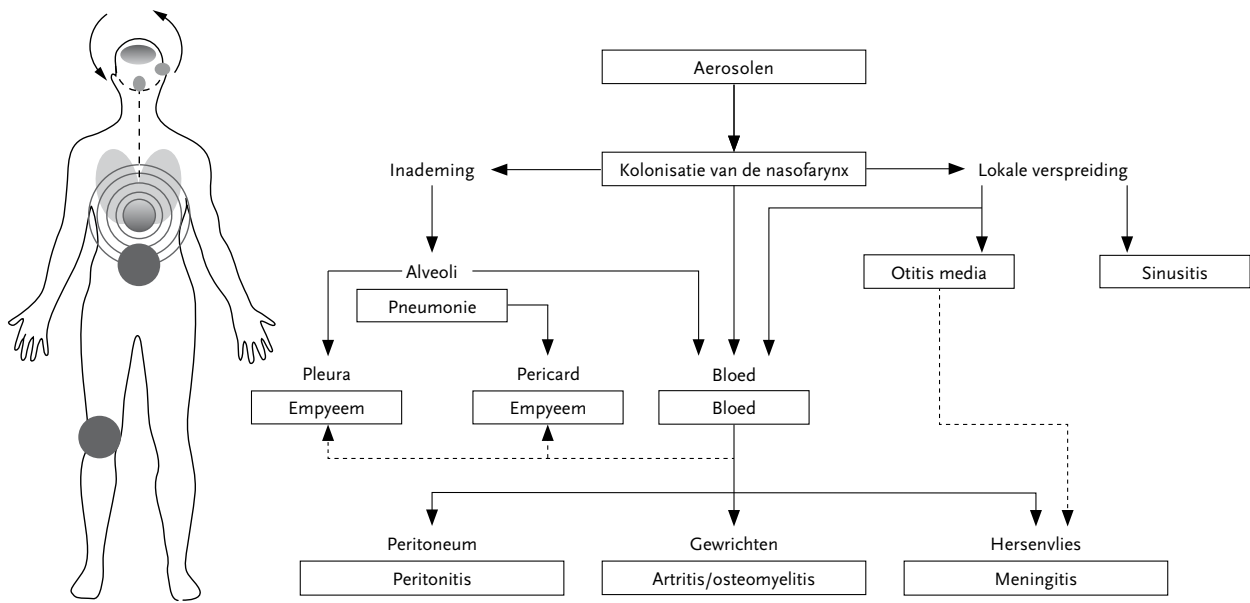
In sommige gevallen weet de pneumokok zich vanuit de nasofarynx lokaal te verspreiden, met klinische symptomen zoals middenoorontsteking en voorhoofdsholteontsteking tot gevolg, of erger, indien de bacterie zich in de alveoli nestelt en longontsteking veroorzaakt. Vanuit de long kan de pneumokok migreren naar andere weefsels waardoor bloedvergiftiging en hersenvliesontsteking kunnen ontstaan.

Met name de invasieve infecties waarbij de bacterie de longen, het bloed of het centraal zenuwstelsel infecteert, kunnen zeer ernstig verlopen, niet zelden met fatale afloop. Ter illustratie: het aantal kinderen wereldwijd onder

Figuur 2. Microscopische opnamen van *Streptococcus pneumoniae* (S. Hammerschmidt)



Figuur 3. *Streptococcus pneumoniae*: kolonisatie en infectie (D. Bogaert).



de vijf jaar dat sterft aan pneumokokkenpneumonie wordt geschat op meer dan één miljoen per jaar, gemiddeld zo'n vier doden per minuut. Ook tijdens ziekte zet het immuunsysteem van de gastheer alle zeilen bij, maar bij invasieve pneumokokkeninfecties is antibioticumtherapie geen overbodige luxe (figuur 3).

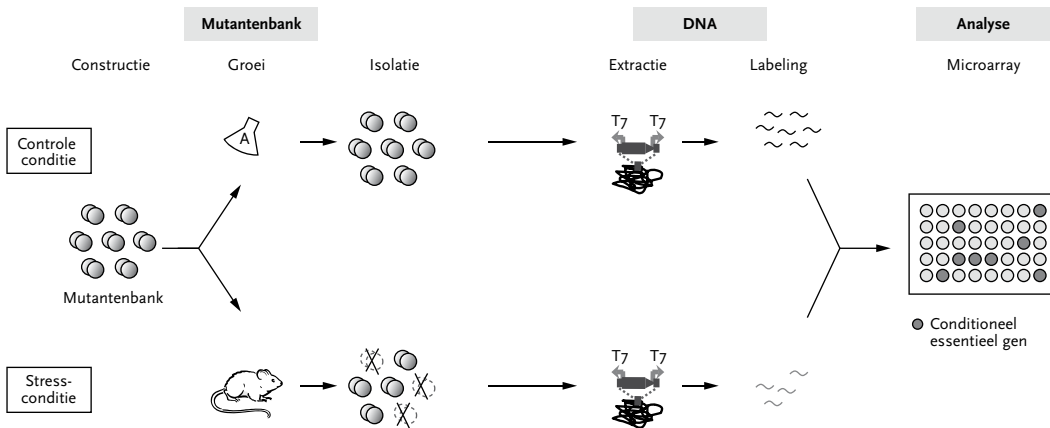
Kolonisatie van de gastheer is dus een cruciale stap in de pneumokokkenpathogenese: het is namelijk zowel de *porte d'entrée* om ziekte te veroorzaken als de plek van waaruit de bacterie zich weet te verspreiden naar andere individuen. Het is dan ook niet verwonderlijk dat veel onderzoek wordt uitgevoerd om de moleculaire mechanismen van hechting aan nasofarynxepitheel te ontrafelen. Inmiddels is bekend dat sommige pneumokokkeneiwitten specifiek gastheerfactoren binden waardoor op efficiënte wijze het slijm, aanwezig op het epitheel, wordt afgebroken. Een sterk staaltje van gastheer-pathogeeninteractie: onder regie van de pneumokok breken gastheerenzymen de beschermende slijmlaag af zodat de bacterie de epitheelcel kan bereiken en hechting kan plaatsvinden. Bij deze hechting spelen diverse moleculen een belangrijke rol. Oppervlakte-eiwitten kunnen specifiek aan receptoren op epitheelcellen binden en zodoende bacteriële adhesie faciliteren.

In nauwe samenwerking met onze Duitse collega's professor Sven Hammerschmidt en dr. Thilo Kamphausen hebben wij onderzoek gedaan aan het pneumokokkenoppervlakte-eiwit SlrA. Dit eiwit is eveneens betrokken bij adhesie: genetisch gemodificeerde pneumokokken

die niet meer in staat zijn het eiwit te produceren hebben moeite om te hechten aan epitheelcellen. Ook onze dierexperimentele modellen laten zien dat SlrA-deficiënte mutanten niet in staat zijn om de nasofarynx van de muis optimaal te koloniseren. We hebben de enzymatische activiteit van SlrA opgehelderd. Het SlrA-eiwit behoort tot de familie van isomerasen en is naar verwachting verantwoordelijk voor de correcte vouwing van andere eiwitten. Het onderzoek richt zich momenteel op de ontrafeling van de moleculaire rol van SlrA in adhesie, in het bijzonder de identificatie van eiwitten die door SlrA worden gevouwen. Onze werkhypothese is als volgt: bij afwezigheid van SlrA verloopt de vouwing van specifieke oppervlakte-eiwitten, adhesies van de bacterie, suboptimaal, waardoor hechting aan epitheelcellen vermindert.

Zijn er nog meer, tot nu toe niet geïdentificeerde moleculen van de pneumokok die bijdragen tot kolonisatie van de gastheer? Deze vraag heeft de laatste jaren de postdocs Hester Bootsma en Peter Burghout en promovendus Lori Cron in mijn laboratorium bezighouden. In samenwerking met het Groningse onderzoeksteam van professor Oscar Kuipers hebben we een microarraytechnologie ontwikkeld, genaamd *Genomic Array Footprinting* (GAF) die ons in staat stelt duizenden verschillende pneumokokkenmutanten, elk met een specifiek genetisch defect, te onderzoeken. Niet één voor één zoals tot dan toe gebruikelijk, maar gelijktijdig in een enkel experiment (figuur 4). De GAF-technologie heeft ons een gedetailleerd beeld opgeleverd welke eiwitcoderende

Figuur 4. Genomic array footprinting-technologie (GAF)



genen de bacterie nodig heeft voor optimale kolonisatie van onze experimentele gastheer, de muis. Naast diverse eiwitten die zijn gelegen aan het oppervlak van de bacterie, blijken ook enzymen betrokken bij de stofwisseling van belang voor optimale kolonisatie.

Hoewel metabolisme naar verwachting geen directe rol speelt bij hechting aan epitheel, speelt de aanwezigheid van voedingsstoffen in de nasofarynx een cruciale rol bij kolonisatie. Wouter Hendriksen heeft tijdens zijn promotieonderzoek de rol van het metabolisme van de bacterie onderzocht. In dit onderzoek is de bijdrage van de regulatoreiwit CodY dat betrokken is bij de stikstofmetabolisme, tijdens kolonisatie van de pneumokok aangetoond. Daarnaast zijn de targetgenen die door CodY worden gereguleerd in detail in kaart gebracht. Naast de regulatie van diverse metabole genen bleek de directe regulatie van de expressie van adhesine-eiwit PcpA opmerkelijk. Kennelijk zijn metabolisme en kolonisatie sterk met elkaar verweven. Wellicht is dit vanuit bacteriële optiek niet zo verwonderlijk: bij voldoende voedingsaanbod in de neus is optimale hechting het devies. Maar zodra voedsel schaars wordt, laat de bacterie los, hetgeen zowel het risico voor infectie als voor transmissie vergroot. Bacteriën zijn net mensen: zolang er voldoende eten is, blijven ze; als het voedsel schaars wordt, is het tijd om te vertrekken.

Wanneer de pneumokok de sprong in het diepe waagt en zich verplaatst naar andere weefsels, zoals het middenoor, de long, het bloed of het centraal zenuwstelsel, dan spreken we over een infectie. Dit vergt een ander wapenarsenaal van de bacterie. Tijdens infectie is er bij beide partijen van altruïsme geen sprake. De pneumokok zet zijn beste beentje voor om te overleven in de nieuwe omgeving en het hoofd te bieden aan het immunologische verweer van de gastheer. De gastheer heeft geen andere keuze dan massaal de aanval in te zetten om de pneumokok te overmeesteren en op te ruimen.

Als de pneumokok zich vanuit de nasofarynx via de buis van Eustachius verplaatst naar het middenoor spreken we van middenoorontsteking. Promovendus Kim Stol heeft in samenwerking met de afdeling KNO van het UMC St Radboud een dierexperimenteel model ontwikkeld dat ons in staat stelt om de moleculaire interactie tussen gastheer en pneumokok tijdens middenoorontsteking te onderzoeken. Er wordt gebruikgemaakt van een overdrukcabine om de pneumokokken op niet-invasieve wijze van de nasofarynx naar het middenoor van de muis te verplaatsen met ontsteking tot gevolg. Dit experimentele model heeft inmiddels het belang van het eerder besproken eiwit SlrA en het altruïstisch samenspel tussen SlrA en het verwante eiwit PpmA tijdens middenoorontsteking aangetoond. De specifieke bijdrage van diverse pneumokokkeiwitten aan middenoorontsteking wordt momenteel in dit model onderzocht.

Bij longontsteking dringt de bacterie de luchtwegen binnen. Om dit compartiment te bereiken dient de pneumokok eveneens los te komen van het nasofarynx-epitheel. Via inademing bereikt de pneumokok de longblaasjes waarna de bacterie hecht aan het longepitheel, met longontsteking tot gevolg. Hierbij moet de pneumokok zich verdedigen tegen menselijke afweermechanismen om in leven te blijven. De pneumokok bezit oppervlakte-eiwitten die op specifieke wijze gastheerfactoren binden, waardoor de bacterie beschermd is tegen antibacteriële aanvallen van de gastheer.

Tijdens longontsteking maakt de pneumokok giftige stoffen, toxines, aan. Het toxine pneumolysine komt vrij wanneer een deel van de bacteriepopulatie afsterft en lyseert. Lysis van een deel van de pneumokokkenpopulatie is een mechanisme dat ook wel broedermoord wordt genoemd: het egoïstische deel van de populatie doodt de bacteriële altruïsten zodat de toxines vrijkomen. Pneumolysine is een giftige stof die het epitheel kapotmaakt, waarna de pneumokok kan binnendringen in

de bloedbaan, met bloedvergiftiging tot gevolg. Het is dan ook niet verwonderlijk dat circa 30 procent van de patiënten met pneumokokkenlongontsteking ook bloedvergiftiging ontwikkelt.

De bloedbaan is voor de meeste bacteriën een moeilijke omgeving om te overleven. Bepaalde voedingselementen zoals ijzerionen zijn in vrije vorm onvoldoende aanwezig. Alleen met specifieke eiwitten voor ijzerbinding en -opname kan er voldoende ijzer door de bacteriën worden verkregen. Daarnaast liggen in de bloedbaan het complementsysteem en diverse immuuncellen op de loer om de bacterie aan te vallen, te doden en op te ruimen. De suikerlaag om de pneumokok, het kapsel, beschermt de bacterie tegen complementdepositie en complementgemedieerde *killing* door fagocyten. Ook eiwitten spelen hierbij een belangrijke rol: het eiwit PspC bijvoorbeeld bindt factor H van de gastheer, waardoor complementactivatie wordt geremd en complementgemedieerde *killing* wordt verhinderd.

Als de pneumokok het bloedcompartiment overleeft, kan de reis worden voortgezet naar de hersenen. Hiervoor dient de bloed-hersenbarrière te worden doorbroken. De pneumokok gebruikt wederom het toxinepneumolysine, waardoor de cellulaire barrière wordt beschadigd en toegang tot het hersencompartiment ontstaat en hersenvliesontsteking zich kan ontwikkelen. Daarnaast heeft de pneumokok ook de beschikking over subtielere mechanismen om de bloed-hersenbarrière te passeren. Na specifieke binding aan endotheelcellen kan transcytose optreden waarbij pneumokokken dwars door de endotheelcellen migreren zonder deze kapot te maken.

We hebben *genomic array footprinting* toegepast in onze dierexperimentele modellen voor pneumokokkendragerschap, -sepsis en -meningitis. Deze genoombrede aanpak heeft geresulteerd in een lijst van pneumokokkengen die een bijdrage leveren aan de pathogenese van kolonisatie en infectie. De specifieke bijdrage van deze genen aan de pathogenese worden op dit moment in detail bestudeerd. De succesvolle GAF-technologie wordt inmiddels ook ontwikkeld voor *Haemophilus influenzae* en *Moraxella catarrhalis*, twee andere bacteriële pathogenen die bij kinderen luchtweginfecties kunnen veroorzaken. Een groot project waarin de promovendi Karl Weigand en Stefan de Vries onder supervisie van Peter Burghout en Hester Bootsma hun tanden hebben gezet. Naast *microarray*-technologie zal hier ook worden gebruikgemaakt van het nieuwste speeltje: *deep-sequence*-technologie waarbij *high-throughput*-sequentieanalyse wordt toegepast om duizenden bacteriële mutanten te volgen tijdens experimentele infecties.

Ik hoop dat ik u niet heb afgeschrikt met mijn moleculair-microbiologische geweld, maar dat u, net als ik, onder de indruk bent van de complexiteit van de interactie

tussen gastheer en pathogeen, in dit geval de interactie tussen mens (of muis) en pneumokok. Tot zo ver is de interactie nog erg statisch, laten we proberen de genetische diversiteit van zowel gastheer als pathogeen in het verhaal te betrekken.

De pneumokok is in staat te overleven in diverse niches van het menselijk lichaam. De bacterie is hierop genetisch aangepast. Toch zijn niet alle pneumokokken hetzelfde. Er is genetische variatie waardoor verschillende structuren en eigenschappen ontstaan. Zo verschillen pneumokokken bijvoorbeeld in de moleculaire structuur van hun kapsel. En dit heeft klinische consequenties: bacteriën met kapseltype 1 of 4 veroorzaken na kolonisatie relatief vaker invasieve infecties dan soortgenoten met kapseltype 19F of 3. Ook bezitten sommige pneumokokken resistentie tegen antibiotica waardoor infecties moeilijker te behandelen zijn. Veelvuldig gebruik van antibiotica leidt onherroepelijk tot de ontwikkeling en verspreiding van resistentie in de pneumokokkenpopulatie, gefaciliteerd door de efficiënte manier waarop pneumokokken met elkaar en met ander bacteriën genetische informatie uitwisselen. Ook de gastheer dwingt de pneumokok om continu te veranderen om zodoende de immunologische afweer het hoofd te bieden. Continue aanpassing aan de veranderende omgeving leidt dus tot genetische diversiteit in de pneumokokkenpopulatie.

En de gastheer? Ook mensen zijn verschillend, en deze verschillen hebben vaak een genetische oorsprong. Subtiele verschillen in de genetische compositie van immuunresponsgenen van de gastheer kunnen leiden tot een individuspecifieke respons waardoor in het gunstige geval de pneumokok adequaat en tijdig wordt opgeruimd, of in het ongunstige geval de bacterie onvoldoende wordt aangepakt met ziekte tot gevolg. Het genetische paspoort van eenieder van ons speelt dus een belangrijke rol bij zowel de vatbaarheid voor infectieziekten als de ernst van beloop van deze ziekten. Zo heeft Marieke Emonts tijdens haar promotieonderzoek aangetoond dat bij kinderen subtiele genetische verschillen in de genen die coderen voor TNFA, IL6, IL10 en TLR4 zijn geassocieerd met vatbaarheid voor middenoorontsteking. Naar verwachting leiden deze polymorfismen tot een afwijkende immunologische respons met een verhoogde risico voor middenoorontsteking. Dit is echter het topje van de ijsberg. *Microarray*-technologie en geavanceerde *high throughput DNA sequencing* stellen ons inmiddels in staat om honderdduizenden polymorfismen in het genoom van de mens te onderzoeken op hun associatie met vatbaarheid voor infectieziekten maar ook in relatie tot de ernst van het beloop van deze ziekten.

Van wetenschappelijke kennis naar biomedische toepassing

De interactie tussen gastheer en pathogeen is een ingenieus moleculaire spel met altruïstisch en egoïstisch gedrag van beide partijen. Soms samen, vaak eigen. De

moleculaire ontrafeling van deze interactie geeft veel voldoening aangezien het resulteert in wetenschappelijke publicaties, promoties, bewondering van collega-onderzoekers en heel soms een beetje afgunst. Zaken die het ego van iedere onderzoeker strelen. Maar wat doen we met deze kennis? Kunnen we deze kennis toepassen, van nut maken voor de maatschappij? Het antwoord hierop is ja! Laat ik u aan de hand van twee voorbeelden trachten te overtuigen.

Het eerste voorbeeld: gedetailleerde kennis van de pneumokokkencomponenten die een belangrijke rol spelen tijdens infectie biedt een wetenschappelijk uitgangspunt om geavanceerde vaccins te ontwikkelen. De pneumokok is, zoals reeds besproken, omgeven door een suikerlaag, het kapsel. Dit kapsel is een belangrijke virulentiefactor die de bacterie beschermt tegen de eerste aanvallen van het aangeboren immuunsysteem. Het complementsysteem is door de aanwezigheid van het kapsel niet in staat de bacterie te binden waardoor complementactivatie gevolgd door vernietiging en opruiming van de bacterie, niet plaatsvindt. Eén – nul voor de pathogeen, zult u zeggen. De gastheer heeft echter nog een tweedelijnsbescherming via het adaptieve immuunsysteem. Dit immuunsysteem wordt geactiveerd door de aanwezigheid van de pathogeen waardoor pneumokoks specifieke afweercellen, B- en T-cellen, worden aangemaakt en pneumokoks specifieke antistoffen worden geproduceerd. Kapselspecifieke antistoffen binden aan de pneumokok, complementbinding en -activatie vinden plaats en specifieke immuuncellen die zijn getraind in de herkenning van deze complexen ruimen de bacterie op. Einde verhaal, pathogeen dood en de gastheer leeft nog lang en gelukkig, ...tenzij de bacterie in staat is zich genetisch aan te passen, zijn kapsel verandert en op deze manier aan het immuunsysteem weet te ontsnappen. Genetische aanpassing heeft ertoe geleid dat er inmiddels meer dan 90 verschillende pneumokokkencapsels zijn die elk een specifieke beschermende immunerespons van de gastheer vergen.

De huidige pneumokokkenvaccins zijn gebaseerd op de kapselsuikers van de bacterie. Het pneumokokkenvaccin dat alle kinderen in Nederland ontvangen via het Rijksvaccinatieprogramma, bestaat uit een cocktail van zeven verschillende suikers gekoppeld aan een dragereiwit, het 7-valente conjugaatvaccin. Dit vaccin beschermt uitstekend tegen invasieve infecties veroorzaakt door pneumokokken met suikerkapsels die in het vaccin zitten, de zogenaamde vaccintypes. Maar het beschermt niet tegen andere kapseltypen, de zogenaamde niet-vaccintypes. En dit heeft vervelende consequenties. Vaccintypes verdwijnen na vaccinatie uit de populatie waardoor niet-vaccintypes hun kans grijpen en de gastheer koloniseren en infecteren. Maar ook andere bacteriële pathogenen zoals *Staphylococcus aureus* grijpen hun kans.

Vaccintypes zijn dus in staat om zowel niet-vaccintype pneumokokken als *S. aureus* te weren uit de neuskeelholte van de gastheer, een egoïstisch trekje van de vaccintype pneumokokken dat microbiologisch noch immunologisch is ontrafeld. Professor Lieke Sanders en dr. Reinier Veenhoven hebben aangetoond dat kinderen die erg vatbaar zijn voor middenoorontstekingen, na pneumokokkenvaccinatie last krijgen van oorontstekingen veroorzaakt door *S. aureus*, de pathogeen die juist door vaccintype pneumokokken uit de neus wordt geweerd. Sinds de introductie van het pneumokokkencjugaatvaccin nemen de invasieve infecties door niet-vaccintypes toe. In de Verenigde Staten waar het vaccin al in 2000 is geïntroduceerd, zien we dat bepaalde niet-vaccintypes geleidelijk de overhand nemen. De wet van behoud van ellende in praktijk. En wat kunnen we hieraan doen? Meer kapsels toevoegen aan het huidige vaccin. Dit wordt inderdaad overwogen en binnen afzienbare tijd zullen 10- en 13-valente pneumokokkencjugaatvaccins naar verwachting op de markt komen. Met als gevolg? Mijn voorspelling is een nieuwe aanpassing én verschuiving binnen de pneumokokkenpopulatie van vaccintypes naar niet-vaccintypes.

Kunnen we dit tij keren? Ik vrees van niet, en daarom wordt er binnen ons laboratorium hard gewerkt aan de ontwikkeling van een alternatief pneumokokkenvaccin waarbij wordt gebruikgemaakt van essentiële eiwitten die aan het oppervlak van de bacterie liggen. Deze eiwitten zijn bereikbaar voor het immuunsysteem en vanwege hun essentiële functie in de pathogenese zijn ze bij iedere pneumokok aanwezig. Binnen ons *genomic array footprinting*-onderzoek zijn diverse oppervlakte-eiwitten geïdentificeerd die aan deze criteria voldoen en de vaccin-kwaliteiten van deze eiwitten worden in dierexperimentele modellen onderzocht.

Gaan we nog een stapje verder, dan kunnen we ons afvragen of het mogelijk is een vaccin te ontwikkelen dat niet door middel van injectie met een spuit maar als neusspray kan worden toegediend. Dit biedt namelijk grote voordelen: het is kindvriendelijk en gebruiksvriendelijk, aangezien er geen injectienaalden aan te pas komen. In samenwerking met een Nederlandse biotechnologiebedrijf wordt gewerkt aan de ontwikkeling van een dergelijk mucosaal vaccin. Hierbij worden de pneumokokkenvaccineiwitten gekoppeld aan afgedode yoghurtbacteriën. Eerste experimenten hebben aangetoond dat de helft van de muizen die dit vaccin in de neus kregen toegediend, de bacterie opruimen en de pneumokokkeninfectie overleven. Niet alle muizen overleven echter de infectie, zoals wel het geval is met het suikervaccin. Onze vaccinatie resultaten zijn bemoedigend, maar de wetenschappelijke strijd is nog niet gewonnen.

Het tweede voorbeeld: gedetailleerde kennis van de gastheerrespons tijdens virale luchtweginfecties draagt

bij aan de ontwikkeling van geavanceerde diagnostische strategieën. Hiervoor gaan we naar het onderzoek van promovenda Kim Brand en postdoc Angela van Diepen dat onderdeel uitmaakt van het VIRGO-project onder leiding van professor Ab Osterhaus. In dit project wordt de gastheerrespons op virale luchtweginfecties bestudeerd. Gedetailleerd moleculair biologisch onderzoek heeft aangetoond dat bepaalde immuuncellen, de perifere mononucleaire cellen op een specifieke manier reageren op deze infecties. Tevens bleek het genexpressieprofiel van de kinderen met luchtweginfecties, in dit geval veroorzaakt door het respiratoir syncytiaal virus (RSV) geassocieerd met de ernst van ziekte (figuur 5).

Aangezien de moleculaire reactie van het kind zowel ziektespecifiek als ernstspecifiek is, kan deze in principe worden toegepast om de infectie in groot detail te diagnosticeren. Dergelijke diagnose biedt de arts waardevolle informatie, waarop de behandeling adequaat kan worden afgestemd. *Tailored therapy*, zo u wilt. Maar, zo zal de

kritische luisteraar zeggen, kan dit ook snel en aan het bed? Het antwoord hierop luidt: nee, nog niet. De huidige laboratoriumbepaling vergt namelijk geavanceerde technieken, complexe apparatuur en hoogopgeleid personeel. Toch ben ik niet somber over de toekomst van deze geavanceerde diagnostiek. Nieuwe ontwikkelingen in de nanotechnologie, *biochips* en *microfluidics* zullen naar verwachting een grote bijdrage leveren aan de vertaling van deze complexe diagnostische bepalingen naar gebruiksvriendelijke methodes voor snelle *bedside diagnosis*.

Valorisatie van wetenschappelijke kennis

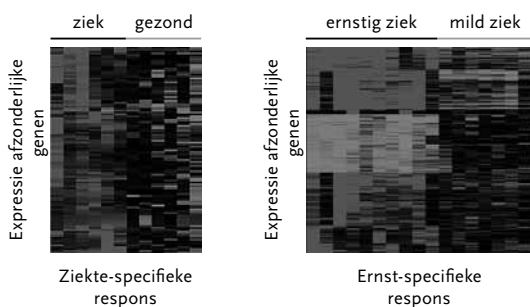
Prima, deze veelbelovende biomedische toepassingen. Maar vinden deze toepassingen hun weg naar de markt? Want daar moeten ze uiteindelijk terecht komen, willen ze de patiëntenzorg dienen.

Het antwoord is: ja, dit gebeurt. Nieuwe diagnostica en vaccins bereiken de markt, maar dit proces verloopt traag, te traag. Dames en heren, we begeven ons nu op het terrein van kennisvalorisatie, letterlijk vertaald kennis een commerciële waarde toekennen, vrij vertaald kennis vermarkten.

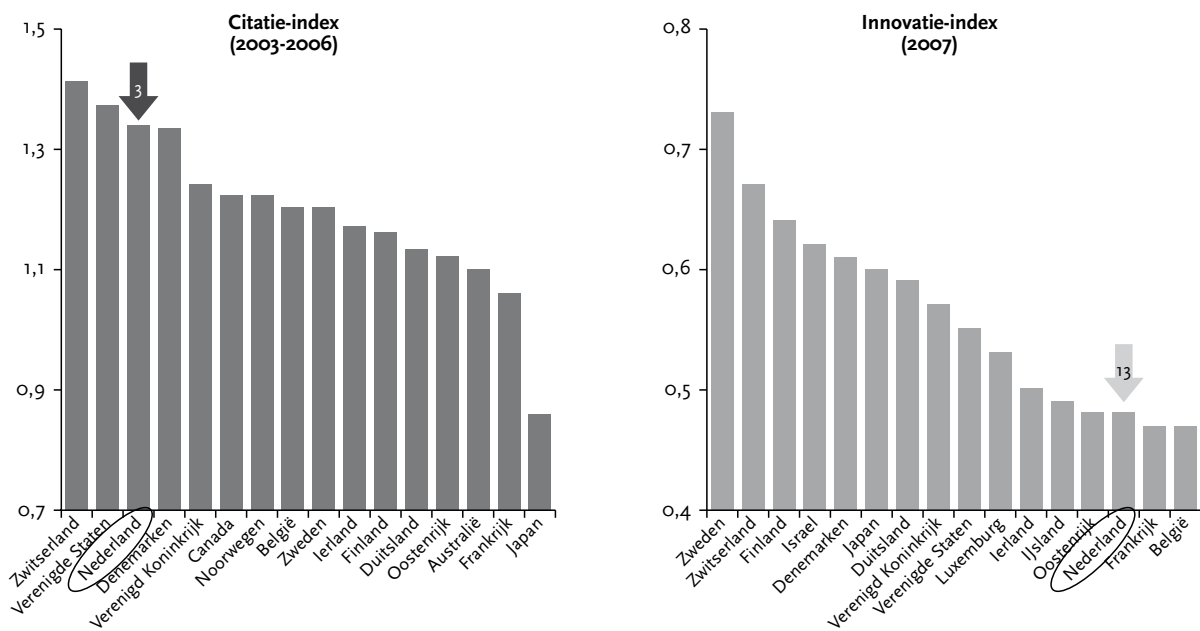
Hoe doet Nederland het op het gebied van kennisvalorisatie? Wat betreft het genereren van medisch-wetenschappelijke kennis behoort Nederland in ieder geval tot de wereldtop met 6-7 procent van de totale wereldwijde wetenschappelijke output, hierin alléén voorbijgestreefd door de Verenigde Staten en Zwitserland. Maar Nederland loopt achter in de vertaling van (bio)medische kennis naar patenten, producten en geld. Dit wordt de kennisparadox genoemd (figuur 6).

De Nederlandse overheid heeft de ambitie uitgesproken de kenniseconomie naar de Europese top te stuwten.

Figuur 5. Genexpressieprofielen van perifere mononucleaire cellen van kinderen met virale luchtweginfecties (K. Brand)



Figuur 6. Valorisatie van kennis: citatie-index en innovatie-index



Deze ambitie is vormgegeven door het Ministerie van Economische zaken en structurele verhoging van de budgetten voor onderzoek en ontwikkeling zijn inmiddels een feit. Dit is een positieve ontwikkeling die recent ook door de Nederlandse Federatie van Universitair Medische Centra is omarmd.

De rol van de wetenschapper bij kennisvalorisatie is heel groot. Deze is lang onderschat, met name door de wetenschappers zelf. Laat ik helder zijn: onderzoekers dienen zich ervan bewust te zijn dat het hun plicht is aan de Nederlandse belastingbetaler, hoofdsponsor van ons onderzoek, kennis tot economisch en maatschappelijk nut te maken. Octrooiering van kennis is hierbij vaak onontbeerlijk. Met name bij de ontwikkeling van therapeutica en vaccins zijn patenten van essentieel belang. Zonder patenten leidt kennis niet tot nieuwe vaccins en medicatie. Zonder patenten onthouden we de belastingbetaler simpelweg nieuwe medische toepassingen.

Sinds mijn aanstelling in Rotterdam en later in Nijmegen draag ik mijn steentje bij aan de valorisatie van opgedane wetenschappelijke kennis. De Rotterdamse patentportfolio heeft geresulteerd in biotechnologische *spin out* en intensieve wetenschappelijke samenwerking met diverse commerciële partijen. Ook in Nijmegen werpt mijn onderzoek inmiddels zijn commerciële vruchten af. In samenwerking met het directoraat Valorisatie van het UMC St Radboud zijn diverse patentaanvragen ingediend. Deze octrooien hebben inmiddels geleid tot een stevige subsidiestroom voor wetenschappelijk onderzoek én voor medische productontwikkeling. De intensieve interactie met de valorisatiemedewerkers zie ik als een schoolvoorbeeld van commercieel altruïsme. De slogan van De Tegenpartij 'Geen gezeik, iedereen rijk' is een belangrijke gemene deler voor beide partijen.

Inbedding van het pediatrisch infectieziektenonderzoek

Binnen de onderzoekslijn pediatrische infectiologie en immunologie ga ik mij de komende vijf jaar richten op

drie zaken: onderzoek naar de moleculaire pathogenese van luchtweginfecties, de ontwikkeling van humane biomarkers om respiratoire infectieziekten te diagnosticeren en de ontwikkeling van vaccins om bacteriële luchtweginfecties te voorkomen. Ik heb u voorbeelden van mijn onderzoek op het gebied van de microbiële pathogenese, biomarkeridentificatie en vaccinontwikkeling gegeven. Deze wetenschappelijke doelen vereisen nauwe samenwerking en interactie met diverse laboratoria en klinische afdelingen zowel binnen als buiten het UMC St Radboud, en betrokkenheid van biologen, chemici, fysici en medici. En dit alles met behoud van zichtbaarheid en erkenning van alle betrokkenen. Samen sterk, maar met behoud van eenieders gezicht; samen, maar ook wel een beetje voor ons eigen.

Geachte toehoorders, ik heb u een kijkje in mijn keuken gegeven. Ik heb u verteld over mijn fascinatie en enthousiasme voor het vakgebied van de moleculaire infectiologie, het samenspel tussen gastheer en pathogeen. Ik heb u laten zien hoe kennis binnen mijn onderzoeksteam tot stand komt en hoe deze kennis kan worden vertaald naar toepassing om de zorg voor kinderen met infecties te verbeteren. U weet nu dat ik het translationele onderzoek een warm hart toedraag, waarbij intensieve interactie en multidisciplinaire samenwerking tussen kliniek en laboratorium de boventoon voert. Een samenspel tussen onderzoeker en clinicus. Ik heb pneumokokkeninfecties en virale luchtweginfecties als voorbeeld genomen. Andere onderzoeken, niet minder belangrijk, zijn helaas niet aan de orde gekomen. Mijn excuses aan alle postdocs en promovendi wier onderzoek vandaag niet in het zonnetje is gezet.

Ik dank u allen voor uw aandacht. Ik heb gezegd.

Referenties kunnen worden opgevraagd bij de auteur.

PERSONALIA

Nieuwe leden

- B.M. Hogema, Sanquin, Afd. Virusdiagnostiek, Plesmanlaan 125, 1066 CX Amsterdam
- Mw. I. Maat, UMC St. Radboud, Afd. Medische Microbiologie, MMB 574, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen
- M.G.J. Marijnissen, Roche Diagnostics Nederland BV, Afd. Applied Science en Molecular Diagnostics, Transistorstraat 41, 1322 CK Almere
- Mw. E.A. Reuland, Vijzelgracht 5-II, 1017 HM Amsterdam
- Mw. Dr. M.A.B. van der Sande, RIVM, CIB, postbak 75, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven
- Dr. F.H.J. Schuren, TNO Kwaliteit van Leven, Afd. Microbiële Genomics, Postbus 360, 3700 AJ Zeist
- H.R.A. Streefkerk, Kerkweg 14, 3371 AG Hardinxveld-Giessendam
- Mw. S. Svraka, Tergooiziekenhuizen, Centraal Bacteriologisch en Serologisch Laboratorium, Van Riebeeckweg 212, 1213 XZ Hilversum

Adreswijziging

Prof. dr. A.J. Winkelhoff, Universitair Medisch Centrum Groningen, Afdeling CTM, Postbus 196, 9700 AD Groningen

AGENDA

2010

17 juni 2010

11^e Symposium SWAB

Hotel Karel V, Utrecht. 12.30-17.45 uur

Informatie: info@congresscare.com; www.swab.nl

18 juni 2010

Infecties in de Obstetrie en Gynaecologie, 8^e Wim Schellekens Symposium

Medisch Centrum Haaglanden, Den Haag

Informatie: M.weel@mchaaglanden.nl

20-24 juni 2010

XIII Parvo Virus Workshop

Helsinki, Finland

Informatie: Johanna Vappula en Mia von Knorring,

Confedent International, e-mail: parvohelsinki@confedent.fi,

<http://www.virology.ch/parvo2010.html>

24-25 juni 2010

Nederlandse Tuberculosedagnostiekdagen

RIVM, Bilthoven

Informatie: e-mail: www.tuberculosis.rivm.nl

6 september 2010

10^e Gezamenlijke bijeenkomst van de Werkgroep Algemene Medische Microbiologie

St. Antonius Ziekenhuis, Nieuwegein. Aanvang 14.00 uur

Informatie: T. Schulin, tel. 024 361 43 56; R.W. Vreede, tel.

015 260 43 05

12-15 september 2010

50th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC)

Boston, USA

Informatie: ASM, 1752 N Street, NW Washington, DC

20036-2804, VS, e-mail: ICAAC@asmusa.org,

ICAAC@itsmeetings.com, <http://www.icaac.org>

19-13 oktober 2010

7th International Conference of the Hospital Infection Society (HIS)

Liverpool, Engeland

Informatie: info@his2010.com, www.his2010.com

24 november 2010

Bijeenkomst van de Werkgroep West, medische microbiologie

St. Franciscus Gasthuis, Rotterdam. Aanvang 14.00 uur

Informatie: R.W. Vreede, e-mail: vreede@rdgg.nl,

tel. 015 260 43 05

6 december 2010

32^e Bijeenkomst van de Werkgroep Oost, medische microbiologie

Huize Heyendaal, Nijmegen. Aanvang 14.30 uur

Informatie: T. Schulin, tel. 024 361 43 56

PROMOTIES

16 oktober 2009 - H. Agustiandari

Proefschrift: *Regulation of multidrug resistance in Lactococcus lactis*

Promotor: prof. dr. A.J.M. Driessen, Rijksuniversiteit Groningen, Faculteit Wiskunde en Natuurwetenschappen, afdeling Moleculaire Microbiologie

2 november 2009 - L. Gidijala

Proefschrift: *Metabolic reprogram of Hansenula polymorpha: introduction of penicillin biosynthesis pathway in yeast*

Promotores: prof. dr. I.J. van der Klei en prof.dr. M. Veenhuis, Rijksuniversiteit Groningen, Faculteit Wiskunde en Natuurwetenschappen, afdeling Moleculaire Celbiologie

4 november 2009 - D.W. Verhagen

Proefschrift: *Clinical and pathophysiological aspects of infective endocarditis*

Promotor: prof. dr. P. Speelman. Copromotor: dr. J.T.M. van der Meer, AMC Amsterdam, afdeling Inwendige Geneeskunde

6 november 2009 - K. Kozaczynska

Proefschrift: *HIV-1 superinfections*

Promotor: prof. dr. B. Berkhout. Copromotores: dr. A.C. van der Kuyl en dr. M.T. Cornelissen, AMC Amsterdam, afdeling Medische Microbiologie en Laboratorium voor Experimentele Virologie

12 november 2009 - Y.P. Liu

Proefschrift: *Combinatorial RNAi against HIV-1*

Promotor: prof. dr. B. Berkhout, AMC Amsterdam, afdeling Medische Microbiologie en Laboratorium voor Experimentele Virologie

17 november 2009 - K.J. von Eije

Proefschrift: *RNAi based gene therapy for HIV-1, from bench to bedside*

Promotores: prof. dr. B. Berkhout en prof. dr. J.J. Rossi, AMC Amsterdam, afdeling Medische Microbiologie en Laboratorium voor Experimentele Virologie, Beckman Research Institute of the City of Hope, Department of Molecular Biology, CA, USA

18 november 2009 - F.P.N. Mollema

Proefschrift: *Clinical epidemiological studies on methicillin resistant and susceptible Staphylococci*

Promotor: prof. dr. H.A. Verbrugh. Copromotores: dr. M.C. Vos en dr. J.L. Nouwen, Erasmus MC Rotterdam, afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten

19 november 2009 - S.C.J.M. Vervoort

Proefschrift: *Adherence to HAART. A study of patients' perspectives and HIV nurse consultants' strategies*

Promotores: prof. dr. I.M. Hoepelman, prof. dr. J.C.C. Borleffs, prof. dr. M.H.F. Grypdonck, Universiteit Utrecht, faculteit Geneeskunde, afdeling Geneeskunde

24 november 2009 - J. Brinkhof

Proefschrift: *Detection and control of lentiviral infections in sheep and goats*

Promotores: prof. dr. B. Colenbrander en prof. dr. P.J.M. Rottier. Copromotores: dr. C. van Maanen en dr. D. Houwers, Universiteit Utrecht, Faculteit Diergeneeskunde, Infectieziekten en Immunologie, afdeling Virologie

25 november 2009 - R.P. Schuring

Proefschrift: *Determinants for the development and course of leprosy - findings from a prospective cohort study*

Promotor: prof. dr. W.R. Faber (emeritus hoogleraar). Copromotores: dr. L. Oskam en dr. J.H. Richardus, AMC Amsterdam, Faculteit Geneeskunde, afdeling Dermatologie

9 december 2009 - M.M.J. Cox

Proefschrift: *Development of an influenza virus vaccine using the baculovirus-insect cell expression system. Implications for pandemic preparedness*

Promotor: prof. dr. J.M. Vlak. Copromotor: dr. M.M. van Oers, Wageningen Universiteit, Laboratorium voor Virologie

9 december 2009 - J.J. Kerremans

Proefschrift: *Rapid bacterial diagnostics and their effect on patient treatment and outcome*

Promotor: prof. dr. H.A. Verbrugh. Copromotor: dr. M.C. Vos, Erasmus MC Rotterdam, afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten

Dubbelpromotie

15 december 2009 - E. Sri Lestari en J.A. Severin

Proefschrift: *Antimicrobial resistance in Indonesia: prevalence, determinants and genetic basis*

Promotores: prof. dr. H.A. Verbrugh en prof. dr. K. Kuntaman. Copromotores: dr. M. Keuter en dr. W.H.F. Goessens, Erasmus MC Rotterdam, afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten. Dr. Soetomo Academic Hospital – School of Medicine, Department of Clinical Microbiology, Airlangga University, Surabaya, Indonesia

25 januari 2010 - S. Shekalaghe

Proefschrift: *Reducing malaria transmission in low endemic areas in Tanzania by antimalarial drugs; epidemiological and interventions studies*

Promotor: prof. dr. R.W. Sauerwein. Copromotores: dr. J.T. Bousema en dr. C.J. Drakeley, UMC St. Radboud Nijmegen, afdeling Medische Microbiologie