

NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR

MEDISCHE MICROBIOLOGIE



COVID-19

COVID-19-vaccins: wat weten we en wat moeten we onderzoeken?

Variants of concern van SARS-CoV-2

Transmissieroute

De verleiding

In Retrospect

Dr. Abraham Capadose en de dierlijke vaccine





nederlandse vereniging voor medische microbiologie

Nederlands Tijdschrift voor
Medische Microbiologie
Het officiële orgaan van de
Nederlandse Vereniging voor Medische
Microbiologie (NVMM) informeert lezers
over zowel fundamentele als klinische
relevante ontwikkelingen binnen het
vakgebied. Ook biedt het plaats voor
promoties, symposium- en congres-
verslagen en cursusaankondigingen.

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

Hoofredactie
Dr. Bert Mulder

Redactie
Dr. Jarne M. van Hattem, Nicolien M.
Hanemaaijer, dr. Esther Heikens, dr.
Jaap J. van Hellemond, Maarten
Heuvelmans, Jan A. Kaan, dr. Bob
Meek, dr. Janette C. Rahamat-
Langendoen, Gro L. Vlaspolder

Redactiesecretariaat
Alphatekst, Marina Kapteyn
Baronie 42
2405 XG Alphen aan den Rijn
tel. 06 12076835
marina@alphatekst.nl

Frequentie 4 x per jaar. Alle rechten voorbehouden.
Op deze uitgave is het redactiereglement van
toepassing.

Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd,
opgeslagen in een geautomatiseerd gegevens-
bestand 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 redactie. De redactie verklaart dat deze
uitgave op zorgvuldige wijze en naar beste weten is
samengesteld; evenwel kan de redactie op geen
enkele wijze instaan voor de juistheid of volledigheid
van de informatie. De redactie aanvaardt 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.

Inhoud

Pagina

Van de redactie

De pandemie en de zomerdip 51

Transmissieroute

De verleiding 52
Vishal Hira

Artikelen

Ruim 25 jaar verder: mensen met een lang bestaande
hivinfectie 53
Thom Vonder, Tania Mudrikova

COVID-19-vaccins: wat weten we en wat moeten we
onderzoeken? 61
Jona Walk, Bert Mulder

De opkomst van variants of concern van SARS-CoV-2 69
*Erik Vogelzang, Bettie Voordouw, Jacco Wallinga,
Don Klinkenberg, Dirk Eggink, Harry Vennema, Chantal Reusken*

In Retrospect

Dr. Abraham Capadose en de dierlijke vaccine 76
Jan Peter Verhave

Artikelen

Het Wells-Rileymodel bij SARS-CoV-2. Beperkingen en
toepassing 80
*Roberto Traversari, Anne Brouwer, Lucie Vermeulen, Piet Jacobs,
Wim Maassen, Jack Schijven*

Inzicht in bestrijding van resistentiemechanismen bij
faagtherapie

Deel 4: Tegenaanval van de faag 86
Deel 5: Discussie en conclusie 90
*Julia Egido Egido, Pieter Jan Haas, Ana Rita Costa,
Annabel Niessen*

Abstract

Lisanne Steijvers 93

Promoties & oraties

95

De pandemie en de zomerdip

Na een Transmissieroute van de hand van Vishal Hira over coronasneltesten, waarin herkenbare emoties aan bod komen, volgt een artikel over hiv, van Tania Mudrikova en coauteurs. Het gaat over de aanzienlijke vooruitgang die is geboekt in de prognose na het stellen van de diagnose.

In deze editie van het *NTMM* gaan vier artikelen over COVID-19 en/of vaccinatie, of ze hebben daar een raakvlak mee. Jona Walk en Bert Mulder beschouwen de huidige kennis over de verschillende vaccins, en zij bespreken de onderzoeksvragen die er nog liggen. Erik Vogelzang, Bettie Voordouw en coauteurs bespreken in het artikel *erna de Variants of Concern* van SARS-CoV-2. Beide artikelen zijn als voorpublicatie op de website van de NVMM verschenen.

Het derde artikel, dat in de rubriek 'In Retrospect' past, raakt aan de vaccinatie. Hierin belicht Jan Peter Verhave de visie van de in 1795 geboren medicus Abraham Capadose op de toenmalige pokkenvaccinatie. De controversen die toen over vaccinatie bestonden, zijn tot op heden niet verdwenen.

In "Het Wells-Rileymodel bij SARS-CoV-2, beperkingen en toepassing" wordt beschreven hoe het sinds lang gebruikte epidemiologische model volgens Wells-Riley verkeerd kan worden ingezet om het effect van ventilatie op virusverspreiding te voorspellen. Roberto Traversari en anderen laten zien dat het *Quantitative microbial risk assessment (QMRA)*, waarbij alle relevante omgevingsfactoren expliciet worden beschouwd, een betere methodiek is om de kans op besmettingen te schatten.

Daarna volgen twee delen van het feuilleton van Julia Egido Egido en anderen over de faagtherapie. Deel 4 gaat over de tegenaanval van de faag, deel 5 bevat als afsluiting een discussie en conclusie.

Tot slot vragen we aandacht voor een artikel dat in mei van dit jaar in *Plos* is verschenen, getiteld "De betekenis van sociale netwerken en gedrag rond het voorkómen van infectieziekten; een cross-sectioneel onderzoek van mensen van 40 jaar en ouder", van Lianne Steijvers en anderen, afkomstig uit de GGD van Zuid-Limburg. Dit onderzoek beschrijft de resultaten van een enquête over de invloed van de media op het gedrag van mensen uit verschillende socio-economische klassen op het gebied van infectiepreventie.

Ook in deze zomerdip van de pandemie leven we in een omgeving die aan de medische microbiologie meer dan gewone aandacht geeft. Dat levert ons vakgebied veel lof op, maar door de vaak ingrijpende beperking in bewegingsvrijheid die samenhangt met de adviezen, ook kritiek. De precisie waarmee de virologische kenmerken gevolgd kunnen worden tot op moleculair niveau is bekend uit de hivpandemie. De ontwikkeling gaat weer sneller dan toen, in de laatste decennia van de vorige eeuw.

Evenals bij aids destijds is er sprake van een wereldwijde spoedcursus zelflerend therapeutisch vermogen. Voor COVID-19 betekent dit dat complicaties in het ziekbed eerder worden voorkomen door medicatie of anderszins. De digitale uitwisseling van kennis is massaler dan destijds, met positieve gevolgen. De enorme patiëntpopulaties, die helaas bestaan, maken grootschalig onderzoek mogelijk.

Over de ontwikkeling van mRNA-vaccins werd al vele jaren gesproken maar het is nu realiteit. En of de mondiale vaccinatie uiteindelijk de pandemie met dit muterende virus onder controle kan brengen, ook dat is nog verborgen in de voorliggende boekdelen.

*Mede namens Bert Mulder,
Jan Kaan*

De verleiding

Vishal Hira

"Testen bij de minste klachten". Het is een regel die ik strikt naleef en vanuit een gevoel van professioneel plichtsbesef aan anderen opleg. Van de schoonmaker tot directeur, eenieder die het ook maar waagt om per ongeluk te niezen of te kuchen mag een goed geoefende blik van betekenisvolle strengheid met een vleugje teleurstelling verwachten. Toegegeven, misschien speelt er ook een stukje gevoel van morele superioriteit, maar ach, het is voor het goede doel. Ik kan mij dan ook storen aan de mensen die klagen over de oro-/nasofarynxafname. Het ongemak is beperkt, en eventuele langdurige emotionele schade wordt voorkomen door de posttraumatische amnesie. Dankzij mijn kleine kinderen heb ik me inmiddels negen keer moeten laten testen op SARS-CoV-2, telkens met een negatieve uitslag. De laatste keer was afgelopen zaterdag nog, met slechts een loopneusje ging ik vrolijk naar de teststraat. De uitslag heb ik afgewacht, terwijl ik de groene aanslag van mijn terrastegels verwijderde.

Afgelopen dinsdag werd mijn vierjarige dochter wakker met een snotneus en een kuchje. Ik keek haar veelbetekenend aan en zij snapte het meteen. "Yeah, testen!", riep ze verheugd. Het vooruitzicht op een diploma en een kleurplaat is blijkbaar voldoende om haar in opperste staat van blijdschap te doen verkeren. Dat is het voordeel van een jaar lang niets krijgen, omdat niemand langs komt. De volgende dag begon mijn vrouw te snotteren en te kuchen. Zij bleek iets minder enthousiast om zich te laten testen. Misschien wel begrijpelijk, zij zou immers geen diploma en kleurplaat krijgen. Ze vroeg mij of het wel nodig was, onze dochter was negatief en zij had dezelfde klachten. Mijn inmiddels welbekende blik deed haar naar haar telefoon grijpen en binnen enkele minuten was de testafpraak gemaakt. Mijn vrouw keek me nog geërgerd aan, onze zevenjarige dochter aanschouwde het geheel hoofdschuddend.

Donderdag bleken de twee geteste dames dusdanig ziek dat zij de hele dag thuis zijn gebleven. In de avond voelde ik een kriebel in mijn keel.

Het is nu vrijdagochtend, ik zit aan de eettafel. Ik werd wakker met forse keelpijn en een rechterneusgat waar dik slijm uit kwam. Het ergst waren mijn bijholtes. Ik voelde de behoefte om een spuit te pakken, de naald in mijn rechter sinus maxillaris te rammen en alle inhoud op te zuigen. Ik weet uiteraard wat dit betekent, ik moet mij laten testen. Afgelopen oktober had ik dezelfde klachten. Ineens herinner ik me hoe de keelwat over mijn amandelen schraapte, ik moet kokhalzen bij de gedachte. De nasofarynxwat voelde als een boor die via mijn neus probeerde mijn oogkas te bereiken. Ik herinner mij de waterval aan tranen uit mijn rechteroog en het medelijden in de ogen van de afnamedame. Ik kijk voor me en zie een antigeensneltest liggen. "Bij klachten naar de teststraat." Ook die regel leg ik mijzelf en anderen continu op. Ik twijfel, maar ik heb de test zelf gevalideerd en twee keer in één week naar de teststraat lijkt mij teveel. Na 15 seconden is het controlelijntje mooi positief. Ik glimlach als ik terugdenk aan de mensen die bij de validatiestudie opmerkten dat de test zo snel negatief was geworden. Na 15 minuten is het testbandje nog steeds negatief. Triomfantelijk zeg ik tegen mijn vrouw dat ik nu niet naar de teststraat hoef, de transmissieroute is immers duidelijk, onze dochter en zij waren negatief en mijn antigeentest is ook negatief. Mijn vrouw kijkt mij aan met een blik van betekenisvolle strengheid en een vleugje teleurstelling. Ik kijk hoopvol naar mijn dochters, maar zie dezelfde blik. Met een zucht pak ik de telefoon om een testafpraak te maken. Als ik de verleiding al niet kan weerstaan, hoe zou het de leek dan vergaan?

Met weer een negatieve uitslag geef ik de pen door aan Fleur Koene.

Ruim 25 jaar verder: mensen met een lang bestaande hivinfectie

Thom Vonder, Tania Mudrikova

Samenvatting

Mensen die voor de introductie van 'highly active antiretroviral therapy' (HAART) werden gediagnosticeerd met hivinfectie en nu nog in leven zijn, staan bekend als 'long-term survivors' (LTS). Velen van hen leefden jarenlang met een onvoldoende onderdrukte virale replicatie en overleefden verschillende aidsdefiniërende aandoeningen. Desondanks heeft het merendeel nu een uitstekende virologische suppressie en een herstel van hun CD4-getal weten te bereiken. Ruim 25 jaar blootstelling aan hivinfectie en antiretrovirale medicatie hebben echter hun tol geëist. Door aanhoudende systemische inflammatie, versnelde veroudering en toxische effecten van langdurig ART-gebruik, hebben veel LTS nu te maken met een substantiële ziektelast. Even belangrijk zijn de psychologische gevolgen van het chronisch ziek zijn en van de abrupte verandering in het levensperspectief na de introductie van de combinatie-therapie. Om optimale behandeling te kunnen bieden is het daarom van belang om meer inzicht te krijgen in de karakteristieken en de risico's van deze unieke groep patiënten.

Summary

HIV-infected patients who were diagnosed before the introduction of 'highly active antiretroviral therapy' (HAART) and who are still alive today, are known as long-term survivors (LTS). Many of them were exposed to years of inefficiently suppressed viral replication and survived several AIDS-defining conditions. Despite this, most have managed to achieve an excellent virological suppression and CD4-cell count restoration. However, more than 25 years of exposure to HIV infection and antiretroviral therapy (ART) have taken their toll. Due to ongoing systemic inflammation, accelerated aging and long-term ART toxicity, many LTS are now confronted with

a substantial comorbidity burden. Not less important are the psychological consequences of chronic disease and abrupt change in the life perspective after the introduction of combination antiretroviral therapy. In order to provide LTS with optimal care, it is important to get better insight into the unique characteristics and risks of this group of patients.

Introductie

Sinds 1981, het jaar waarin de eerste patiënt in Nederland met aids werd gediagnosticeerd, heeft beleid rondom de hivinfectie een enorme ontwikkeling doorgemaakt. De wetenschappelijke successen op virologisch, immunologisch en farmacologisch gebied werden door de klinici snel in de dagelijkse praktijk vertaald. Na jaren van slechte prognostische vooruitzichten, met veel morbiditeit en een gemiddelde levensverwachting van slechts enkele jaren na diagnose, heeft de introductie van 'highly active antiretroviral therapy' (HAART) in 1996 voor een drastische ommekeer gezorgd. Ook al zijn veel patiënten in de pre-HAART-periode overleden, is een groot aantal mensen met de diagnose uit dat tijdperk nog in leven. Van 3500 personen die vóór 1996 bij de Stichting HIV Monitoring (SHM) werden geregistreerd, waren er eind 2018 nog 1933 in zorg [1]. Zij worden nu vaak 'long-term survivors' (LTS) genoemd. Zij vormen een unieke groep patiënten die werden blootgesteld aan jarenlang onvoldoende onderdrukte virale replicatie en die vaak een of meer aidsdefiniërende aandoeningen overleefden.

UMC Utrecht, afdeling Interne Geneeskunde, divisie Interne Geneeskunde en Dermatologie, T. Vonder, coassistent, T. Mudrikova, internist-infectioloog. Correspondentieadres: t.mudrikova@umcutrecht.nl.

Velen van hen worden nu behandeld met complexe antiretrovirale regimes vanwege virusresistentie. Volgens de SHM-data hadden de LTS in Nederland in 2018 een mediane leeftijd van 58 jaar, waren het met name mannen (82,5 procent) en meer dan de helft was afkomstig uit Nederland (65,8 procent); 66,6 procent is besmet geraakt via seksueel contact met mannen die seks hebben met mannen (MSM) [1].

Antiretrovirale behandeling: van de mono- naar de tripeltherapie

Na de introductie van de eerste hivremmer azidothymidine (AZT), een nucleoside reverse-transcriptaseremmer (NRTI) in 1987 werden veel patiënten met AZT-monotherapie behandeld. Al snel bleek echter dat de suppressie van de virusreproductie slechts tijdelijk was, en dat er selectie van virusmutaties optrad. Met de volgende NRTI's zoals zalcitabine (ddC), didanosine (ddI) en stavudine (d4T) werd duotherapie mogelijk. Mono- en duotherapie hadden een gunstig effect op de overleving van hivpatiënten, maar gingen gepaard met (langetermijn)toxiciteit en verdere opkomst van resistente mutanten. Midden jaren 90 kwam er een grote doorbraak toen twee nieuwe geneesmiddelenklassen werden geïntroduceerd: de proteaseremmers (PI's; saquinavir in 1995) en non-nucleoside reverse-transcriptaseremmers (NNRTI's; nevirapine in 1996). Het werd al snel duidelijk dat verschillende geneesmiddelenklassen combineren in een tripeltherapie veel effectiever was en voor een duurzamer effect kon zorgen dan de eerder gebruikte mono- en duotherapieën. Het HAART-tijdperk met een nieuw levensperspectief voor de patiënten was hiermee begonnen. LTS hebben de ontwikkelingen rondom hivbehandeling van dichtbij meegemaakt en velen hebben er persoonlijk aan bijgedragen door deel te nemen aan geneesmiddelenproeven.

Veel van hen werden vóór 1996 met mono- en/of duotherapie behandeld met aanzienlijke selectie van de resistentiemutaties als gevolg, met name in het reversetranscriptasegen. Uit de data van SHM blijkt dat 46 procent van de LTS die momenteel in

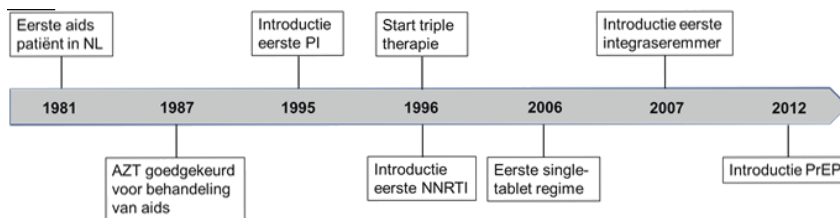
Nederland in zorg zijn, mono- of duotherapie heeft ontvangen voorafgaand aan het starten van HAART [1]. Jaren van blootstelling aan medicatie, met name in de vroege jaren van het antiretrovirale tijdperk, hebben ook hun tol geëist. Veel LTS hebben nu te maken met de neveneffecten in de zin van toxiciteit en moeten worden behandeld met complexe regimes vanwege de resistentie.

Veel van deze patiënten hebben in de vroege jaren antiretrovirale behandeling afgehouden, met name vanwege angst voor de toxiciteit en de opvatting van een slechte prognose ondanks behandeling. Soms vonden artsen op basis van de kennis van toen dat de behandeling uitgesteld kon worden. Achteraf gezien was dit een goede beslissing omdat deze patiënten na start van het HAART-tijdperk een wildtypevirus hadden, waardoor zij behandeling met relatief simpelere regimes konden krijgen.

De ontwikkeling van nieuwe antiretrovirale middelen ging door. Naast de medicijnen met minder toxiciteit in de bestaande klassen zijn er medio het eerste decennium van deze eeuw (rond 2005) nieuwe geneesmiddelenklassen beschikbaar gekomen (integraseremmers, fusie- en entryremmers). Ook werden steeds meer middelen in één tablet gecombineerd (singletabletre regimes). Dit heeft geleid tot vermindering van toxiciteit en een verbetering van de therapietrouw.

De nieuwe antiretrovirale klassen – zonder kruisresistentie – hebben ervoor gezorgd dat de patiënten met resistent virus weer een volledig suppressief regime konden krijgen. Volgens SHM ontvangt 26,6 procent van de LTS in Nederland momenteel een 'niet-standaard' regime [1].

Ondanks dat is de behandeling bij een heel hoog percentage van de LTS succesvol: in 2019 had 89,1 procent een virale load van minder dan 50 kopieën/ml, en bij 97,1 procent was de viremie onder de 200 kopieën/ml [1].



Figuur 1. Een overzicht van belangrijke mijlpalen in de behandeling van hivinfectie

Lange termijn ART-toxiciteit

De twee vaak aangetroffen chronische consequenties van ART-toxiciteit bij LTS zijn lipodystrofie en perifere polyneuropathie. De exacte prevalentie van lipodystrofie [vetaccumulatie, vetverlies (lipoatrofie) of een combinatie] is lastig te bepalen door ontbrekende eenduidige definitie, waardoor schattingen variëren van 18 tot 83 procent [2]. Lipodystrofie is niet alleen een cosmetisch en psychologisch probleem, het wordt ook geassocieerd met hyperlipidemie, insuline-resistentie en een verhoogd risico op hart- en vaatziekten [2-4]. Perifere neuropathie werd in de studie van Evans et al. gevonden bij 32 procent van de hivpatiënten die langer dan drie jaar ART-gebruiker waren; bij een derde van hen was het ziektebeeld symptomatisch [5]. Zowel lipodystrofie als perifere neuropathie werd geassocieerd met blootstelling aan met name zogeheten 'd-drugs' (d4T, ddI en ddC) [6]. Deze NRTI's zijn niet meer op de markt, maar waren in de tijd van beperkte antiretrovirale opties een belangrijke pijler van de behandeling. Om mensen te laten overleven was men bereid meer toxiciteit te accepteren. Sommige neveneffecten, zoals de hierboven beschreven lipodystrofie en polyneuropathie, kwamen bovendien pas aan het licht na langere expositie. Bij lipoaccumulatie speelden de PI's ook een rol [7].

Ook al zijn deze bijwerkingen jaren geleden ontstaan, veel van de LTS ondervinden er nu nog last van.

Immunologische achteruitgang en herstel

Bij veel hivpatiënten leidde de onvoldoende onderdrukte virale replicatie uiteindelijk tot een dusdanige daling van het CD4-getal dat opportunistische infecties en maligniteiten zich konden ontwikkelen, met in veel gevallen een fatale afloop. Veel LTS hebben echter één of zelfs meer aidsdefiniërende aandoeningen overleefd. Van alle hivpatiënten die momenteel in Nederland in zorg zijn, had 23 procent ooit een aidsdefiniërende aandoening, maar in de groep LTS is dit percentage 64 procent [1].

Ondanks een initieel immunologisch verval, hebben de meeste LTS hun CD4-getal weten te herstellen tot meer dan 500 cellen/mm³. SHM rapporteerde in 2018 dat in Nederland 73,5 procent van de LTS een CD4-getal had van 500 cellen/mm³ of hoger [1]. Deze getallen zijn vergelijkbaar met de bevindingen in een Canadees LTS-cohort, waarin 68 procent van de LTS een CD4-getal van meer dan 500 cellen/mm³ en 97,1 procent een viral load van minder dan 200 kopieën/ml had [8].

Persisterende inflammatie en versnelde veroudering

Ondanks adequate onderdrukking van de virale replicatie blijft er bij hivpatiënten sprake van een persisterende staat van immunosuppressie en inflammatie. Dit wordt in stand gehouden door een combinatie van factoren, waaronder laaggradige residuale viremie, veranderingen in het intestinale microbioom, microbiële translocatie en virale co-infecties [9]. Studies laten zien dat mensen met hiv immunologische gelijkenissen vertonen met qua kalenderleeftijd oudere hivnegatieve personen, wat suggereert dat chronische inflammatie, het effect van ART op mitochondriën en andere factoren leiden tot vroegtijdige veroudering van het immuunsysteem [9,10]. Dit fenomeen wordt daarom ook wel 'inflamm-ageing' genoemd [11].

Comorbiditeiten

Vergeleken met de algehele populatie hebben mensen met hiv een hoger risico op het ontwikkelen van verschillende leeftijdsgerelateerde ziekten, waaronder hart- en vaatziekten, diabetes mellitus type 2, hypertensie, botfracturen en een verminderde nierfunctie, en krijgen zij deze ziekten bovendien op jongere leeftijd [12,13]. Hiervoor zijn waarschijnlijk meer oorzaken. Naast de hoge prevalentie van de 'klassieke' risicofactoren zoals dyslipidemie [14] en roken [15] verhogen de cumulatieve toxiciteit van langdurig ART-gebruik en de snellere veroudering de kans op deze ziekten [10,16].

Naarmate de hivgeïnfecteerde populatie door langere overleving gemiddeld ouder wordt, zal de prevalentie van de leeftijdsgerelateerde comorbiditeiten toenemen. Van alle hivpatiënten zijn LTS het langst blootgesteld aan chronische immunosuppressie en ART. Daarom is het waarschijnlijk dat zij de groep zijn bij wie de effecten van vroegtijdige veroudering het snelst duidelijk worden. De informatie hierover is echter vrij schaars. De meeste analyses bij LTS kijken naar de overleving en de uitkomsten van de antiretrovirale behandeling bij deze groep. Er is een aantal prospectieve cohortstudies die naar de prevalentie van de comorbiditeiten kijkt bij mensen met hogere

leeftijd of langer bestaande hivinfectie zoals GEPPO en Dat'AIDS [17,18]; er wordt echter niet specifiek naar mensen uit de pre-HAART-periode gekeken. Het GEPPO-cohort liet zien dat personen die meer dan 20 jaar geïnfecteerd zijn met hiv drie keer zoveel kans hebben op multimorbiditeit dan personen van dezelfde leeftijd die korter met hiv geïnfecteerd zijn [17]. Demontès et al vonden in de groepen patiënten met verschillende kalenderperiodes van hiv-diagnose dat de prevalentie van de niet-hivgerelateerde morbiditeit vergelijkbaar was. Zij hebben echter alleen naar de oude populatie gekeken met een gemiddelde leeftijd van 73 jaar [18].

Cardiovasculaire risicofactoren en aandoeningen

Hart- en vaatziekten

Diverse studies hebben aangetoond dat mensen met hiv een grotere kans hebben op het ontwikkelen van hart- en vaatziekten (HVZ), waaronder acuut myocardinfarct, coronair lijden, cerebrovasculaire ziekte en perifeer vaatlijden [13,14]. Met name blootstelling aan oudere PI's blijkt geassocieerd te zijn met een verhoogd risico op HVZ [28,29]. Aangezien veel LTS jarenlang hieraan zijn blootgesteld is een verhoogde prevalentie van HVZ in deze groep te verwachten. Ook de klassieke risicofactoren zijn echter van belang. In het GEPPO-cohort werd bij patiënten die langer dan 20 jaar met hiv geïnfecteerd zijn een prevalentie van HVZ van 25 procent gezien. Dit is bijna 10 procent hoger dan de prevalentie bij patiënten die minder dan 10 jaar geïnfecteerd zijn en een vergelijkbare leeftijd hebben [17].

Hypertensie en dyslipidemie

De prevalentie van hypertensie bij mensen met hiv is heel hoog, in de orde van 60 tot 85 procent [17,18]. De pathofysiologie lijkt multifactorieel, waarbij verschillende virologische en behandelingsgerelateerde factoren ook een rol spelen. Een aantal van deze factoren - een lager CD4-nadir (de laagste CD4-meting van een individu), langere duur van ART-gebruik, behandeling met PI's - is specifiek van toepassing op LTS [19,20].

Al vroeg in de aidsepidemie werden veranderingen in de lipidenamenstelling beschreven in de zin van een atherogeen LDL-profiel [21,22]. Later bleek het gebruik van ART, met name PI's en NNRTI's, een nog belangrijkere factor in de ontwikkeling van dyslipidemie. Het gebruik van PI's leidt met name tot hypertriglyceridemie en een verhoogd LDL- en totaal cholesterol [23,24]. NNRTI's verhogen ook het LDL- en totaal cholesterol, maar in tegenstelling tot PI's kunnen deze ook leiden tot een stijging van het HDL-cholesterol [23,24]. Langere expositie aan een viremie met de gevolgen voor de lipidenamenstelling, en langere expositie aan ART kunnen bij LTS tot hogere prevalentie van dyslipidemie leiden [23,25]. In het GEPO-cohort zag men bij mensen die 20 jaar of langer geleden geïnfecteerd zijn geraakt, een prevalentie van 77 procent [17].

Diabetes mellitus type 2

Mensen met hiv hebben een grotere kans op het ontwikkelen van diabetes mellitus type 2 (DM2). Het GEPO-cohort rapporteert dat de prevalentie van DM2 bij patiënten die 20 jaar of meer hivgeïnfecteerd zijn, 38 procent is [17]. Waarschijnlijk is deze hoge prevalentie voor een groot deel te verklaren door blootstelling aan PI's en NRTI's [26], met een belangrijke rol voor de oudere ART-middelen. Samad et al. vonden namelijk dat ART starten in een eerder tijdperk (1997-2004), langere duur van ART-gebruik en behandeling met de oudere antiretrovirale middelen allemaal geassocieerd waren met een verhoogde kans op DM2 [27]. De meeste van deze oude regimes worden tegenwoordig niet meer gebruikt en het effect daarvan lijkt terug te zien in data van SHM. Het risico op het ontwikkelen van DM2 in de periode 2011 tot 2018 was significant lager dan tussen 2000 en 2005 (IRR 1,0 vs 1,19) [1]. Het is aannemelijk dat de DM2-prevalentie bij LTS significant hoger is dan bij mensen die later met hiv zijn gediagnosticeerd, maar een directe vergelijking ontbreekt.

Maligniteiten

Dat er een associatie tussen hiv en maligniteiten bestaat werd al vroeg in de epidemie duidelijk, toen

er uitzonderlijk vaak kaposissarcomen en non-hodgkinlymfomen werden waargenomen. Deze kwamen daarom bekend te staan als 'aidsdefiniërende maligniteiten' (ADM's). De introductie van HAART leidde tot een significante daling van de incidentie van ADM's en naarmate mensen met hiv ouder werden kwam er steeds meer aandacht voor het risico op het ontwikkelen van niet-aidsdefiniërende maligniteiten (NADM's). Bij mensen met hiv wordt een hogere incidentie van de maligniteiten gezien in vergelijking met niet-geïnfecteerde personen [13], met name hodgkinlymfoom, anuscarcinoom, longkanker, prostaatkanker en melanoom. In Nederland zijn NADM's tegenwoordig de meest voorkomende doodsoorzaak bij hiv [1]. Demontès et al. vonden dat 10 procent van de hivpatiënten die werden gediagnosticeerd tussen 1983 en 1996, ooit te maken heeft gehad met een NADM. Dit percentage wordt waarschijnlijk vertekend door survival bias [18].

Verminderde botdichtheid

Verminderde botdichtheid en daaruit resulterende botfracturen komen ook vaker voor bij mensen met hiv [12,13]. Brown et al toonden aan dat de prevalentie van verminderde botdichtheid bij hivpatiënten 67 procent is [30]. De prevalentie onder LTS is onbekend, maar de kans hierop is waarschijnlijk verhoogd aangezien de blootstelling aan PI's, een laag CD4-nadir, het doormaken van een aidsdefiniërende aandoening (waarbij kans op gebruik van corticosteroiden), hogere leeftijd en lipodystrofie allemaal geassocieerd zijn met het hebben van osteopenie/osteoporose [30-32].

Hepatitis B-/C-co-infectie

De prevalentie van hepatitis B (hbv) en hepatitis C (hcv) is hoger onder hivpatiënten dan onder de algehele populatie. De co-infectie geeft grotere kans op progressie naar levercirrose, hepatocellulair carcinoom en leverfalen dan een mono-infectie [33]. In Nederland is de prevalentie van chronische hbv- en hcv-infectie al zo'n twee decennia lang dalende. In 1998 werd bij 8,5 procent van de hivgeïnfecteerde populatie een positieve HBsAg gevonden, en in

2018 was dit percentage gedaald tot 4,2 procent. De prevalentie van hcv-co-infectie toont een vergelijkbare daling van 11,1 procent naar 4,8 procent [1]. De prevalentie van hbv-/hcv-co-infectie en levermorbiditeit was in de vroege jaren van de hiv-epidemie hoog. Veel hivdiagnoses werden toen gesteld bij ontvangers van besmette bloedproducten en intraveneus drugsgebruikers. Veel meer LTS kregen te maken met de hbv-/hcv-co-infectie en de daaropvolgende levermorbiditeit. In een hivcohort van Nederlandse patiënten met hemofilie was er bij 68 procent sprake van een chronische hepatitis C-infectie, waarbij bij een zesde van de patiënten de serologie-uitslag ontbrak [34].

Cognitieve en psychologische impact

Hiv kan via mononucleaire cellen de hersenen binnendringen, en zich vervolgens vestigen en repliceren in onder andere microglia-cellen. Virale replicatie leidt tot immunosuppressie en de productie van pro-inflammatoire stoffen, die uiteindelijk cognitieve schade veroorzaken [35]. Vóór de introductie van HAART zag men vaak ernstige cognitieve en motorische schade bij vergevorderde hivinfectie (aids dementiecomplex, ADC, later hernoemd tot hivgeassocieerde dementie, HAD). De introductie van HAART leidde tot een grote daling in de incidentie van HAD. De laatste jaren zijn er echter steeds meer patiënten met mildere cognitieve klachten, waaronder geheugenproblemen, traagheid en aandachtsproblemen. Hierbij wordt een associatie gezien met onder andere een laag CD4-getal, hogere leeftijd en hart- en vaatziekten [35]. Op basis van deze gegevens zou men verwachten dat er bij LTS vaak cognitieve stoornissen worden gezien. Cysique et al. vonden echter dat de prevalentie daarvan niet significant verschilde in de groepen uit de periode voor en na HAART-introductie (41 procent versus 39 procent). Wel werden er kwalitatieve verschillen gevonden tussen de groepen [36].

Veel LTS hebben ook te maken met psychologische problemen, als gevolg van het doormaken van de beginjaren van de aidsepidemie, een fenomeen dat ook bekend staat als het aidsoverlevingssyndroom [37]. In het begin van de epidemie werd hivinfectie

gezien als een terminale ziekte. Toen HAART werd geïntroduceerd werd overleving ineens een reële optie en deze verandering in perspectief had een grote impact op de levens van mensen met hiv. Veel van hen hadden hun baan al opgezegd en hun spaargeld opgemaakt, toen ze plots te horen kregen dat ze nu een goede kans op overleving hadden. Dit nieuws leidde niet alleen tot gevoelens van hoop maar ook tot onzekerheid en angst, en ging vaak gepaard met symptomen van depressie [37]. Daarnaast leidde deze hernieuwde kans op leven bij veel mensen met hiv ook tot schuldgevoelens, omdat veel van hun vrienden en partners de ziekte niet hadden overleefd [38]. De psychologische last van deze traumatische ervaringen heeft ook een effect op de kwaliteit van leven (QoL) van LTS. Onderzoek laat zien dat de QoL van hivpatiënten significant lager is dan die van de algehele populatie, en bij hivpatiënten die in eerdere kalenderjaren werden gediagnosticeerd, is de reductie in QoL het grootst [39].

Vermoeidheid

Vermoeidheidsklachten komen veel voor bij mensen met hiv en kunnen een grote impact hebben op hun sociaal-maatschappelijk functioneren en kwaliteit van leven. Het ontwikkelen van vermoeidheidsklachten is met name geassocieerd met psychologische factoren zoals angst en depressie, en het gebruik van ART. Of LTS een grotere kans hebben op het ontwikkelen van vermoeidheidsklachten is nog onduidelijk. Een aantal studies heeft een associatie tussen langere duur van hivdiagnose en het ontwikkelen van vermoeidheidsklachten aangetoond; er zijn echter ook studies die dit tegenspreken [40].

Conclusie

Ondanks het frequent doormaken van aids, jarenlang leven met een onvoldoende onderdrukte virale replicatie en met de onzekerheid over de prognose, hebben de meeste LTS nu een uitstekende virologische suppressie en herstel van hun CD4-getal weten te bereiken. Ruim 25 jaar blootstelling aan hiv en antiretrovirale therapie hebben echter hun tol geëist. Hoewel er veel

aandacht is voor de virologische, immunologische en psychologische uitkomsten bij deze groep, is de informatie over de somatische comorbiditeit nogal schaars. Het is echter te verwachten dat ondanks de relatief lage kalenderleeftijd de LTS met meer nevenziekten geconfronteerd worden dan mensen die alleen met combinatietherapie werden behandeld. Ook onderbelicht zijn de mogelijke langetermijnconsequenties van de doorgemaakte aidsdefiniërende aandoeningen of van de behandeling ervan. Om deze mensen in de toekomst optimale zorg te kunnen bieden is het daarom van belang dat artsen op de hoogte zijn van de unieke psychische en waarschijnlijk ook somatische karakteristieken en bijbehorende risico's van deze groep, zodat de managementstrategieën hierop kunnen worden aangepast. Er moet daarom meer onderzoek worden gedaan met als doel de optimale behandel-, opvolgings- en screeningsstrategieën voor deze groep te kunnen definiëren.

Referenties

1. Van Sighem AI, Wit FWNM, Boyd A, Smit C, Matser A, Reiss P. Monitoring Report 2019. Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection in the Netherlands. Amsterdam: Stichting HIV Monitoring, 2019. [Internet]. Beschikbaar via: www.hiv-monitoring.nl. [Geraadpleegd 26 Januari 2021].
2. Carr A. HIV lipodystrophy: risk factors, pathogenesis, diagnosis and management. *AIDS*. 2003;17 Suppl 1:S141-8.
3. Freitas P, Carvalho D, Souto S, et al. Impact of Lipodystrophy on the prevalence and components of metabolic syndrome in HIV-infected patients. *BMC Infect Dis*. 2011;11:246. Published 2011 Sep 20.
4. Kumar D, Bohra GK, Agarwal M, Khichar S, Choudhary S, Midha N. Prediction of Cardiovascular Disease Risk Using Framingham and Data on Adverse Effect of Antiretroviral Drugs Risk Equation in Relation to Lipodystrophy in HIV Patients on Highly Active Antiretroviral Therapy. *J Glob Infect Dis*. 2018;10:182-7.
5. Evans SR, Ellis RJ, Chen H, et al. Peripheral neuropathy in HIV: prevalence and risk factors. *AIDS*. 2011;25:919-28.
6. Jones MR, Urits I, Wolf J, et al. Drug-Induced Peripheral Neuropathy: A Narrative Review. *Curr Clin Pharmacol*. 2020;15:38-48.
7. Caron-Debarle M, Lagathu C, Boccara F, Vigouroux C, Capeau J. HIV-associated lipodystrophy: from fat injury to premature aging. *Trends Mol Med*. 2010;16:218-29.
8. Krentz HB, John Gill M. Long-term HIV/AIDS survivors: Patients living with HIV infection retained in care for over 20 years. What have we learned?. *Int J Std AIDS*. 2018;29:1098-105.
9. Zicari S, Sessa L, Cotugno N, et al. Immune Activation, Inflammation, and Non-AIDS Co-Morbidities in HIV-Infected Patients under Long-Term ART. *Viruses*. 2019;11(3):200.
10. Smith RL, de Boer R, Brul S, Budovskaya Y, van Spek H. Premature and accelerated aging: HIV or HAART?. *Front Genet*. 2012;3:328.
11. Sokoya T, Steel HC, Nieuwoudt M, Rossouw TM. HIV as a Cause of Immune Activation and Immunosenescence. *Mediators Inflamm*. 2017;2017:6825493.
12. Guaraldi G, Orlando G, Zona S, et al. Premature age-related comorbidities among HIV-infected persons compared with the general population. *Clin Infect Dis*. 2011;53:1120-6.
13. Schouten J, Wit FW, Stolte IG, et al. Cross-sectional comparison of the prevalence of age-associated comorbidities and their risk factors between HIV-infected and uninfected individuals: the AGEHIV cohort study. *Clin Infect Dis*. 2014;59:1787-97.
14. Triant VA, Lee H, Hadigan C, Grinspoon SK. Increased acute myocardial infarction rates and cardiovascular risk factors among patients with human immunodeficiency virus disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:2506-12.
15. Mdodo R, Frazier EL, Dube SR, et al. Cigarette smoking prevalence among adults with HIV compared with the general adult population in the United States: cross-sectional surveys. *Ann Intern Med*. 2015;162:335-44.
16. Chawla A, Wang C, Patton C, et al. A Review of Long-Term Toxicity of Antiretroviral Treatment Regimens and Implications for an Aging Population. *Infect Dis Ther*. 2018;7:183-95.
17. Guaraldi G, Malagoli A, Calcagno A, et al. The increasing burden and complexity of multi-morbidity and polypharmacy in geriatric HIV patients: a cross sectional study of people aged 65 - 74 years and more than 75 years. *BMC Geriatr*. 2018;18:99.
18. Demontès M, Eymard Duvernavy S, Allavena C, et al. Multimorbidity in Elderly Persons According to the Year of Diagnosis of Human Immunodeficiency Virus Infection: A Cross-sectional Dat'AIDS Cohort Study. *Clin Infect Dis*. 2020;71:2880-8.

19. Manner IW, Trøseid M, Oektedalen O, Baekken M, Os I. Low nadir CD4 cell count predicts sustained hypertension in HIV-infected individuals. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2013;15:101-6.
20. Crane HM, Van Rompaey SE, Kitahata MM. Antiretroviral medications associated with elevated blood pressure among patients receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS*. 2006;20:1019-26.
21. Grunfeld C, Pang M, Doerrler W, Shigenaga JK, Jensen P, Feingold KR. Lipids, lipoproteins, triglyceride clearance, and cytokines in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992;74:1045-52.
22. Feingold KR, Krauss RM, Pang M, Doerrler W, Jensen P, Grunfeld C. The hypertriglyceridemia of acquired immunodeficiency syndrome is associated with an increased prevalence of low density lipoprotein subclass pattern B. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;76:1423-7.
23. Dubé MP, Stein JH, Aberg JA, et al. Guidelines for the evaluation and management of dyslipidemia in human immunodeficiency virus (HIV)-infected adults receiving antiretroviral therapy: recommendations of the HIV Medical Association of the Infectious Disease Society of America and the Adult AIDS Clinical Trials Group. *Clin Infect Dis*. 2003;37:613-27.
24. Fontas E, van Leth F, Sabin CA, et al. Lipid profiles in HIV-infected patients receiving combination antiretroviral therapy: are different antiretroviral drugs associated with different lipid profiles?. *J Infect Dis*. 2004;189:1056-74.
25. Kamara DA, Smith C, Ryom L, et al. Longitudinal analysis of the associations between antiretroviral therapy, viraemia and immunosuppression with lipid levels: the D:A:D study. *Antivir Ther*. 2016;21:495-506.
26. Ledergerber B, Furrer H, Rickenbach M, et al. Factors associated with the incidence of type 2 diabetes mellitus in HIV-infected participants in the Swiss HIV Cohort Study. *Clin Infect Dis*. 2007;45:111-9.
27. Samad F, Harris M, Puskas CM, et al. Incidence of diabetes mellitus and factors associated with its development in HIV-positive patients over the age of 50. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2017;5(1):e000457.
28. Iloeje UH, Yuan Y, L'italien G, et al. Protease inhibitor exposure and increased risk of cardiovascular disease in HIV-infected patients. *HIV Med*. 2005;6:37-44.
29. Mary-Krause M, Cotte L, Simon A, Partisani M, Costagliola D; Clinical Epidemiology Group from the French Hospital Database. Increased risk of myocardial infarction with duration of protease inhibitor therapy in HIV-infected men. *AIDS*. 2003;17:2479-86.
30. Brown TT, Qaqish RB. Antiretroviral therapy and the prevalence of osteopenia and osteoporosis: a meta-analytic review. *AIDS*. 2006;20:2165-74.
31. Kooij KW, Wit FW, Bisschop PH, et al. Low bone mineral density in patients with well-suppressed HIV infection: association with body weight, smoking, and prior advanced HIV disease. *J Infect Dis*. 2015;211:539-48.
32. Goh SSL, Lai PSM, Tan ATB, Ponnampalavanar S. Reduced bone mineral density in human immunodeficiency virus-infected individuals: a meta-analysis of its prevalence and risk factors. *Osteoporos Int*. 2018;29:595-613.
33. Thornton AC, Jose S, Bhagani S, et al. Hepatitis B, hepatitis C, and mortality among HIV-positive individuals. *AIDS*. 2017;31:2525-32.
34. Fransen van de Putte DE, Fischer K, Roosendaal G, Hoepelman AI, Mauser-Bunschoten EP. Morbidity and mortality in ageing HIV-infected haemophilia patients. *Haemophilia*. 2013;19:141-9.
35. Schouten J, Cinque P, Gisslen M, Reiss P, Portegies P. HIV-1 infection and cognitive impairment in the cART era: a review. *AIDS*. 2011;25:561-75.
36. Cysique LA, Maruff P, Brew BJ. Prevalence and pattern of neuropsychological impairment in human immunodeficiency virus-infected/acquired immunodeficiency syndrome (HIV/AIDS) patients across pre- and post-highly active antiretroviral therapy eras: a combined study of two cohorts. *J Neurovirol*. 2004;10:350-7.
37. Broun SN. Understanding "post-AIDS survivor syndrome": a record of personal experiences. *AIDS Patient Care STDS*. 1998;12:481-8.
38. Brashers DE, Neidig JL, Cardillo LW, Dobbs LK, Russell JA, Haas SM. 'In an important way, I did die': uncertainty and revival in persons living with HIV or AIDS. *AIDS Care*. 1999;11:201-9.
39. Miners A, Phillips A, Kreif N, et al. Health-related quality-of-life of people with HIV in the era of combination antiretroviral treatment: a cross-sectional comparison with the general population. *Lancet HIV*. 2014;1:e32-e40.
40. Jong E, Oudhoff LA, Epskamp C, et al. Predictors and treatment strategies of HIV-related fatigue in the combined antiretroviral therapy era. *AIDS*. 2010;24:1387-405.

COVID19-vaccins

Wat weten we en wat moeten we onderzoeken?

Jona Walk, Bert Mulder

Samenvatting

Vanwege de enorme impact van de COVID-19-pandemie op onze gezondheid, de economie en de maatschappij zijn er het afgelopen jaar buitengewoon grote sprongen gemaakt in de ontwikkeling van vaccins tegen SARS-CoV-2. Inmiddels zijn drie vaccins toegestaan voor gebruik in Nederland [1-3]. Nog nooit in de geschiedenis heeft vaccinontwikkeling in dit tempo plaatsgevonden. De ontwerpers van de drie vaccins, Pfizer/BioNTech, Moderna en AstraZeneca/Oxford, rapporteren een werkzaamheid tegen symptomatische COVID-19 van respectievelijk 95 [2], 94,1 [1] en 70,4 procent [3]. Alle drie wekken een immuunrespons op tegen het receptor binding domain van het spike-eiwit; Pfizer/BioNTech en Moderna maken gebruik van mRNA in lipide nanopartikels, terwijl AstraZeneca/Oxford een adenovirus gebruiken als vector voor een DNA-sequentie. Bij grootschalige onderzoeken met tienduizenden personen werden geen significante veiligheidsproblemen vastgesteld. Toch is er nog veel onbekend over de immuunrespons tegen SARS-CoV-2 en de effectiviteit van deze vaccins, en er zijn redenen om onze verwachtingen in de praktijk te temperen. Dit overzicht probeert een opsomming te geven van de onzekerheden met adviezen hoe we dit kunnen oplossen.

Eindpunten van klinische onderzoeken

Vanwege de urgentie van de pandemie hebben de geneesmiddelenautoriteiten de vaccins versneld beoordeeld, wel onder de voorwaarden dat ze voldeden aan vooraf gestelde eisen voor veiligheid en werkzaamheid [4]. De consequentie hiervan is dat alle drie de vaccins werden goedgekeurd na interim-analyses van een fase III-onderzoek, waardoor het van cruciaal belang is om de opzet van deze studies te begrijpen om de mogelijke beperkingen van de beschikbare gegevens juist te

kunnen beoordelen.

In alle studies wordt de nadruk gelegd op hetzelfde eindpunt: PCR-bevestigde SARS-CoV-2-infectie in combinatie met specifieke, zelf-gerapporteerde symptomen van COVID-19 [1,2,5]. Door deze gekozen studieopzet blijven echter de twee belangrijkste vragen vooralsnog onbeantwoord: 1) of het vaccin (asymptotisch) dragerschap van het virus voorkomt, met andere woorden of het zogeheten 'steriele-immuniteit' opwekt, en 2) of het vaccin ernstige COVID-19 leidend tot ziekenhuisopname of sterfte voorkomt.

Er zijn wel aanwijzingen dat de vaccins gedeeltelijk beschermen tegen asymptomatisch dragerschap. AstraZeneca/Oxford liet deelnemers wekelijks zelf neus- en keeluitstrijkjes voor PCR afnemen, waardoor we een eerste beeld hebben gekregen van 'steriele immuniteit' na vaccinatie. Ze vonden 57 versus 73 asymptomatische infecties in respectievelijk de gevaccineerde en niet-gevaccineerde groepen, wat zich vertaalt naar een werkzaamheid van 22,2 procent (95 procent BI -9,9 tot 45,0 procent). Wanneer deze worden opgeteld bij de symptomatische gevallen heeft het vaccin een werkzaamheid van 54,1 procent (95 procent BI 44,7 tot 61,9 procent) tegen SARS-CoV-2-infectie [3,6]. Deze gegevens suggereren dat steriele bescherming waarschijnlijk veel lager is dan bescherming tegen symptomatische ziekte (wat in dezelfde studie 66,7 procent was), en deze zal mogelijk verder afnemen als de antilichaamtiters dalen.

Canisius Wilhelmina Ziekenhuis, afdeling Interne geneeskunde, J. Walk, internist, afdeling Medische Microbiologie, B. Mulder, arts-microbioloog.
Correspondentieadres: Jona.Walk@cwz.nl

Of vaccinatie ernstige ziekte kan voorkomen blijft grotendeels onduidelijk vanwege het lage aantal gevallen onder studiedeelnemers. Naar aanleiding van het onderzoek van Moderna wordt wel vermoedelijke effectiviteit tegen 'ernstige COVID-19' gerapporteerd omdat 30 deelnemers in de controlegroep en niemand in de vaccingroep dit ontwikkelde. Echter, van deze patiënten hoefden er maar negen te worden opgenomen, waarvan er maar één naar een intensive care ging en niemand invasief werd beademd [1].

De AstraZeneca/Oxford studie liet een vergelijkbaar resultaat zien, waarbij er ook negen ziekenhuisopnames in de controlegroep voorkwamen vergeleken met geen in de vaccingroep [6]. In de studie van Pfizer/BioNTech waren er maar drie gevallen van ernstige COVID-19 in de controlegroep vergeleken met één in de vaccingroep [2]. Van beide onderzoeken is niet gepubliceerd of er patiënten beademing nodig hadden. Grotere aantallen zullen dan ook nodig zijn om te evalueren of vaccinatie de belasting van ziekenhuizen en intensive cares kan verminderen.

Beperkingen van de studiedesigns

Voorzichtigheid is geboden bij het overnemen van effectiviteitscijfers en het vergelijken van vaccins tussen verschillende onderzoeken wegens verschillen en specifieke zwaktes in hun studieontwerp [7,8]. Een belangrijke beperking van de vaccinonderzoeken van de Pfizer/BioNTech en Moderna is het gebruik van een zoutoplossing (placebo) als controle. Aangezien de vaccins significante lokale reacties veroorzaakten, zoals pijn, zwelling en roodheid op de injectieplaats (ten minste 71 tot 83 procent in het geval van Pfizer/BioNTech en 88,6 procent in het geval van Moderna) vergeleken met placebo (9 tot 14 procent bij Pfizer/BioNTech en 19,8 procent bij Moderna) [1,2], is de behandelingstoewijzing mogelijk ontmaskerd voor de meeste deelnemers [8,9]. Deze beperking moet serieus worden genomen omdat het afnemen van PCR-testen afhankelijk was van beoordelingen door zowel de deelnemers als onderzoekers [2,10]. Bewuste en onbewuste bias

zou kunnen leiden tot een overschatting van de werkzaamheid van het vaccin, wat had kunnen worden vermeden door een ander vaccin (gericht tegen een andere ziekte) te gebruiken als controle. Een andere belangrijke vraag die overblijft, is de werkzaamheid en veiligheid bij bepaalde risicopopulaties, gezien het feit dat deze vaccins breed zullen worden toegepast. Hoewel de fabrikanten ernaar streefden deelnemers met comorbiditeit zoals hepatitis B en C en hiv in hun studies op te nemen, werden andere specifieke groepen zoals immuungecompromitteerden en zwangere vrouwen uitgesloten [11]. Er zijn ook nog weinig gegevens over immunogeniciteit en antilichaam-titers bij hoogbejaarden zoals personen van 85 jaar of ouder, die mogelijk een slechtere respons op vaccinatie hebben [12-14], hoewel dit nog nooit is beoordeeld in de context van mRNA- en adenovirusvaccins. Bovendien zal de werkzaamheid van de vaccins in de praktijk lager uitvallen dan in klinische onderzoeken, omdat factoren als het behoud van koudeketenprocessen, toedieningsrichtlijnen en -tijdstippen minder effectief kunnen worden gewaarborgd. Alles bij elkaar onderstreept dit de behoefte aan nieuwe gegevens en het vervolgen van de werkzaamheid na implementatie.

Veiligheid

De FDA heeft eerder een advies uitgebracht dat een 'Emergency Use Authorization' voor een vaccin gebaseerd moet zijn op veiligheidsgegevens van ten minste twee maanden [15]. De verwachting is dat de meeste significante risico's zich binnen deze tijd zullen voordoen [16], en de afwezigheid van ernstige bijwerkingen in deze grote onderzoeken is inderdaad een veelbelovend teken.

Toekomstige veiligheidsstudies zullen zich richten op het opsporen van zeldzame bijwerkingen die niet detecteerbaar waren in de fase III-populaties [17]. In het verleden hebben dergelijke onderzoeken twee vormen aangenomen. Er werden grote meta-analyses van meerdere gerandomiseerde onderzoeken uitgevoerd om een verband tussen rotavirusvaccinatie en

intussusceptie [18] en tussen het bof-mazelen-rodehond-vaccin en autisme [19] uit te sluiten. Bovendien kunnen in zogeheten fase IV-onderzoeken veiligheid en werkzaamheid na implementatie in een specifieke populatie opgevolgd worden, zoals momenteel wordt gedaan voor Mosquirix, een vaccin tegen malaria [20,21]. In de afgelopen maanden is tijdens de praktische toepassing al een van deze zeldzame gebeurtenissen aangetoond: het aantal anafylactische reacties is van 1:1.000.000 bij conventionele vaccins toegenomen naar 1:45.000 bij de mRNA-vaccins [22,23]. Zorgvuldige beoordeling van deze bevindingen door artsen en regelgevende instanties heeft geleid tot nieuwe richtlijnen [24,25], een praktisch voorbeeld van hoe belangrijk deze 'post-marketing'-bewaking kan zijn.

‘Vaccine-associated enhanced disease’

In de begintijd van de ontwikkeling van het COVID-19-vaccin waren er veel zorgen over mogelijke 'vaccine-associated enhanced disease' (VAED), wat betekent dat vaccinatie symptomatische ziekte kan verergeren. Deze zorgen waren terecht omdat vaccins tegen SARS [26-30] en MERS [31] VAED hebben laten zien. De mechanismen van dit fenomeen zijn onlangs beschreven [32]. In grote lijnen zijn er twee relevante mechanismen. De eerste is 'antibody-dependent enhancement' (ADE). Een belangrijke beschermende functie van antilichamen is 'neutralisatie', waarbij het antilichaam een viraal eiwit zo bindt dat het infectie van een gastheercel blokkeert. Wanneer antilichamen echter wel een virus binden maar het niet effectief neutraliseren, kan het de opname van het virus in andere cellen juist bevorderen en ziekte verergeren. Het bekendste voorbeeld hiervan is het denguevirus, waarbij een persoon die antilichamen tegen een eerste infectie ontwikkelt, ernstige ziekte kan krijgen als hij of zij wordt blootgesteld aan een ander serotype [33]. Bij vaccins tegen dengue wordt hier nauwkeurig op gelet [34], en ook bij SARS is dit beschreven [35-37]. VAED kan ook optreden als er een toename is van longontsteking

door pathologische cellulaire immunoresponsen. Dit werd gezien bij vaccinatie van muizen tegen SARS [28] en bij humane vaccinstudies tegen RSV-bronchiolitis [38-40], ook al worden de mechanismen en relevantie van beide nog onvolledig begrepen.

Tot op heden is er geen bewijs van verergering van ziekte na SARS-CoV-2-infectie na een van de drie goedgekeurde vaccins [1-3], noch is het gerapporteerd bij personen met reeds bestaande immunoresponsen op andere coronavirusstammen of bij studies met 'convalescent plasma' [41].

Toch identificeerden zowel het Europees Geneesmiddelenbureau (EMA) [42] als de Amerikaanse Food and Drug Administration (FDA) [43,44] VAED als een mogelijk risico voor deze vaccins na toelating omdat het nog kan optreden op een later tijdstip. Kort na vaccinatie hebben mensen hoge neutraliserende antilichaamtiters, maar als de titers afnemen en niet langer volledig symptomatische ziekte kunnen voorkomen, kunnen beide mechanismen van VAED een rol gaan spelen. Iets soortgelijks zou kunnen gebeuren als er virusvarianten verschijnen die mutaties hebben waardoor ze kunnen ontsnappen aan de antilichamen die door het vaccin worden geïnduceerd.

Virusmutaties en vaccineffectiviteit

Misschien wel de belangrijkste onbekende factor is de vraag of vaccineïnduceerde afweer aanleiding zal geven tot selectiedruk waardoor bepaalde virusmutanten kunnen ontsnappen aan de specifieke vaccin geïnduceerde immuniteit. De huidige COVID-19-vaccins zijn gebaseerd op de genetische sequentie van het spike-eiwit van de oorspronkelijke stam uit Wuhan, China. Aanvankelijk toonde genetische studies een beperkte variabiliteit binnen het SARS-CoV-2-genoom waardoor vaccins bescherming zouden kunnen bieden tegen alle varianten [45,46]. Zeer recente rapporten melden echter dat nieuwe varianten kunnen ontsnappen aan de verworven [en vaccineïnduceerde immunerespons [47-49].

Gegevens uit neutralisatietests met sera van natuurlijk-geïnficeerde en gevaccineerde personen wijzen niet op een gebrek aan immuunrespons tegen de zogeheten Britse variant (B.1.1.7 met 10 aminozuur-veranderingen in het spike-eiwit) [50]. Voor de 'Zuid-Afrikaanse variant' (B.1.351 of 501Y.V2) daarentegen werd een substantiële of soms zelfs volledige ontsnapping aan neutraliserende antilichamen gezien [51]. Aangezien B.1.1.7 en B.1.351 dezelfde N501Y-mutatie bevatten is het verschil in antilichaamneutralisatie meer waarschijnlijk het gevolg van de E484K-mutatie in B.1.351 [51-53]. Dit werd recent bevestigd in de praktijk toen het vaccin van AstraZeneca/Oxford niet beschermd tegen SARS-CoV-2 met de E484K-mutatie [6], en het benadrukt ook een mogelijk risico van falen van vaccins die gebaseerd op het spike-eiwit alleen [54]. Aangezien één enkele puntmutatie de werkzaamheid van deze vaccins kan verminderen, bestaat het risico dat vaccinatie de prevalentie van mutaties verhoogt [55,56]. De gegevens van de AstraZeneca/Oxford-studie, die een effectiviteit tegen symptomatische COVID-19 laten zien van 66,7 procent en tegen asymptomatische infectie van 22,2 procent, suggereren dat het vaccin een gedeeltelijke bescherming induceert die wel de virale load vermindert, maar niet zijn geassocieerd met volledige virale klaring. Theoretisch gezien zou dit selectiedruk kunnen geven in het voordeel van virussen die de immuunrespons omzeilen, zoals is aangetoond voor andere vaccins [57-59]. Natuurlijke infectie zou een bredere antilichaamrespons kunnen opwekken tegen meerdere antigenen, waardoor het virus minder makkelijk de immuunrespons evadeert.

'Post-marketing'-onderzoeken

Het is duidelijk dat er meer informatie nodig is over de werkzaamheid in de praktijk en de veiligheid op lange termijn. Gelet op het enorm grote aantal mensen dat wereldwijd zal worden gevaccineerd kunnen ook laagfrequente bijwerkingen voor voorheen gezonde mensen ernstige gevolgen hebben. Er is grote behoefte aan meer gegevens maar deze zouden wel eens moeilijk te verkrijgen

kunnen zijn [60]. De fase III-onderzoeken waren oorspronkelijk bedoeld om vervolg-gegevens gedurende twee jaar te verzamelen. Zowel Pfizer/BioNTech als Moderna hebben echter besloten de blinding facultatief te maken en vaccinatie toe te staan van degenen die een placebo hebben gehad. De WHO en anderen benadrukken de noodzaak voor een verdere blinde vervolgperiode [61,62], maar het lijkt onwaarschijnlijk dat deze zal plaatsvinden.

De FDA heeft zowel Pfizer/BioNTech als Moderna verplicht om een aantal specifieke veiligheidsonderzoeken uit te voeren op basis van retrospectieve gegevens en gevaccineerde cohorten [43,44]. Hoewel deze onderzoeken licht kunnen werpen op de frequentie van bepaalde lange-termijn of laagfrequente bijwerkingen, is geen van beide ontworpen om het risico van VAED te beoordelen. Zonder een duidelijke controlegroep is het onmogelijk om dergelijke voorvallen te onderscheiden van veranderingen in de transmissiedynamiek en nieuwe virusvarianten.

Gevolgen voor implementatie en klinische praktijk

Tijdens implementatie van de verschillende vaccins is het belangrijk om rekening te houden met de hiaten in onze kennis. Het ontbreken van duidelijk bewijs voor steriele bescherming onderbouwt het prioriteren van vaccineren van degenen die risico lopen op ernstige ziekte, aangezien zij het meeste baat kunnen hebben bij vaccinatie. Deze groep zou, indien goed geïnformeerd, kunnen dienen als een grote onderzoekspopulatie voor zeldzame bijwerkingen en mogelijke late VAED. Vanwege het risico van mutaties die aan de immuunrespons ontsnappen, kunnen vaccinatieschema's worden geoptimaliseerd om de tijd tussen de eerste en tweede vaccinatie te minimaliseren, aangezien dit de periode is waarin lage antilichaam-titers een additionele evolutionaire selectiedruk op het virus kunnen uitoefenen. Ten slotte is het vertrouwen van het publiek in vaccins de afgelopen jaren afgenomen. In combinatie met de immense aandacht rondom COVID-19 onderstreept dit het cruciale belang van transparante communicatie en

eerlijke erkenning van de beperkingen van onze kennis ten opzichte van de algemene bevolking.

Vervolgonderzoek tijdens implementatie

Het opvullen van vijf belangrijke hiaten in onze huidige kennis zal bijdragen aan een wetenschappelijk onderbouwd vaccinatiebeleid en het anticiperen op nieuwe problemen.

Ten eerste is het noodzakelijk om zowel de daadwerkelijke werkzaamheid van de vaccins vast te stellen als hun effectiviteit bij het voorkomen van intensive-careopnames en sterfte. De meest eenvoudige manier om dit te doen is door middel van gerandomiseerde clusterstudies, bij voorkeur in populaties met een hoog risico, zoals verpleeghuizen. Door de onzekerheid rondom de effectiviteit tegen ernstige ziekte en mortaliteit en het tekort aan vaccins, is het ethisch te verantwoorden dergelijke onderzoeken uit te voeren. Deze populaties zouden het ook mogelijk maken de duur van de bescherming zorgvuldig in kaart te brengen. Ten tweede zal een dergelijke geclusterde implementatie het mogelijk maken om met een actieve vervolgperiode zeldzame ongewenste voorvallen op te sporen en de incidentie van ernstige ziekte te analyseren. Omdat mRNA-vaccins nog nooit op grote schaal in gezonde populaties zijn toegepast is het belangrijk alert te zijn op onverwachte bijwerkingen. Hiermee zou ook VAED bij infectie na vaccinatie of andere onwaarschijnlijke maar potentieel ernstige onbedoelde immunologische effecten tijdig gesignaleerd kunnen worden.

Ten derde moet de veiligheid tijdens de zwangerschap zorgvuldig worden beoordeeld door middel van een actieve vervolgperiode. Daarnaast zullen zowel de veiligheid als de werkzaamheid in groepen met specifieke comorbiditeiten, waaronder immuungecompromitteerde, oncologiepatiënten en patiënten met auto-immuunziekten, moeten worden aangetoond [63]. Ook het effect van vaccinatie in personen die reeds een infectie hebben doorgemaakt zou nog moeten worden onderzocht. Ten vierde is misschien wel de belangrijkste vraag of het vaccin tot steriele immuniteit kan leiden, omdat het doorbreken van transmissie vaak wordt

gezien als de enige uitweg bij deze pandemie. Dit is ook het moeilijkst te beoordelen. Gelet op de ernstige maatschappelijke consequenties van de 'lockdown' en andere maatregelen, kan wel worden gesteld dat deze vraag vanuit beleids oogpunt zo belangrijk is dat een aanzienlijke investering van middelen verantwoord is. De beste beschikbare manier om dit vast te stellen is door middel van routinematige, bij voorkeur wekelijkse PCR-tests, bij positieve uitslag gevolgd door bron- en contactonderzoek, in een gevaccineerde groep die mogelijk aan het virus wordt blootgesteld, zoals essentiële gezondheidswerkers. Dit zou moeten gebeuren in een gecontroleerde, maar niet geblindeerde studie.

Ten slotte kunnen huidige genetische surveillance studies worden uitgebreid om te bepalen of virusvarianten ontsnappen aan de door het vaccin geïnduceerde antilichaamrespons door het uitvoeren van een zogeheten 'sieve analysis' (zeefanalyse). Dit wordt gedaan door genetische sequentie bepaling van infecties bij gevaccineerden en niet-gevaccineerden te vergelijken. Als een specifieke variant vaker voorkomt bij gevaccineerde dan bij niet-gevaccineerde personen, is dit een signaal dat de mutatie het mogelijk maakt om aan de immuunrespons te ontsnappen.

Conclusies

De SARS-CoV-2-pandemie heeft grote gevolgen gehad voor onze gezondheid en onze maatschappij. Hoewel er grote vooruitgang is geboekt bij de ontwikkeling van vaccins tegen COVID-19, is er nog veel onbekend. Er zijn meer gegevens nodig om de veiligheid en de echte werkzaamheid van deze vaccins te beoordelen, vooral nu er sprake is van een muterend virus dat al ten minste één immuun-ontsnappende mutatie heeft opgelopen.

Er is momenteel onvoldoende duidelijkheid over de mate waarin de vaccins infectie en overdracht verminderen. In combinatie met een gebrek aan gegevens over de veiligheid op de lange termijn, pleit dit voor de focus van vaccinatie-inspanningen binnen die populaties die er het meest baat bij hebben, namelijk populaties met een hoog risico op

ernstige COVID-19. Aangezien farmaceutische bedrijven slechts in beperkte mate verdere studies gaan uitvoeren, zullen onze regeringen, die verantwoordelijk zijn voor vaccinatie-inkoop en -strategie, in samenwerking met wetenschappelijke verenigingen een actieve rol moeten spelen bij het ontwerpen, financieren en uitvoeren van de studies die nodig zijn om de hiaten in onze kennis te vullen.

Referenties

1. Baden LR, et al. Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med*, 2020.
2. Polack FP, et al. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med*, 2020.
3. Voysey M, et al. Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *Lancet*, 2020.
4. EMA, EMA considerations on COVID-19 vaccine approval. 2020, European Medicines Agency.
5. Doshi, P, Will covid-19 vaccines save lives? Current trials aren't designed to tell us. *BMJ*, 2020. 371: p. m4037.
6. Voysey M. Single dose administration, and the influence and timing of the booster dose on immunogenicity and efficacy of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) Vaccine. 2021.
7. Johnson RM, Doshi P, Healy D. Covid-19: Should doctors recommend treatments and vaccines when full data are not publicly available? *BMJ*, 2020. 370: p. m3260.
8. Doshi P. Pfizer and Moderna's "95 percent effective" vaccines - we need more details and the raw data, in *The BMJ Opinion*. 2021, *BMJ*.
9. Lodge A. ChAdOx1 nCoV-19 vaccine for SARS-CoV-2. *Lancet*, 2020. 396(10261): p. 1486.
10. Anderson EJ, et al. Safety and Immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 Vaccine in Older Adults. *N Engl J Med*, 2020. 383(25): p. 2427-2438.
11. Klein SL, Creisher PS, Burd I. COVID-19 vaccine testing in pregnant females is necessary. *J Clin Invest*. 2021.
12. Aiello A, et al. Immunosenescence and Its Hallmarks: How to Oppose Aging Strategically? A Review of Potential Options for Therapeutic Intervention. *Front Immunol*, 2019. 10: p. 2247.
13. Nikolich-Zugich J. The twilight of immunity: emerging concepts in aging of the immune system. *Nat Immunol*, 2018. 19(1): p. 10-19.
14. Saletti G, et al. Older adults lack SARS CoV-2 cross-reactive T lymphocytes directed to human coronaviruses OC43 and NL63. *Sci Rep*, 2020. 10(1): p. 21447.
15. Krause PR, Gruber MF. Emergency Use Authorization of Covid Vaccines - Safety and Efficacy Follow-up Considerations. *N Engl J Med*, 2020. 383(19): p. e107.
16. Kim JH, Marks F, Clemens JD. Looking beyond COVID-19 vaccine phase 3 trials. *Nat Med*, 2021.
17. EMA. Pharmacovigilance Plan of the EU Regulatory Network for COVID-19 Vaccines. 2020.
18. Lu HL. et al. Association Between Rotavirus Vaccination and Risk of Intussusception Among Neonates and Infants: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open*, 2019. 2(10): p. e1912458.
19. Di Pietrantonj C, et al. Vaccines for measles, mumps, rubella, and varicella in children. *Cochrane Database Syst Rev*, 2020. 4: p. CD004407.
20. Baral R, et al. Costs of continuing RTS,S/AS01E malaria vaccination in the three malaria vaccine pilot implementation countries. *PLoS One*, 2021. 16(1): p. e0244995.
21. McCall MBB, Sauerwein RW. [Development of vaccines against malaria; progress with contributions from the Netherlands]. *Ned Tijdschr Geneesk*, 2020. 164.
22. Castell MC, Phillips EJ. Maintaining Safety with SARS-CoV-2 Vaccines. *N Engl J Med*, 2020.
23. Kleine-Tebbe J, et al. Severe allergic reactions to the COVID-19 vaccine - statement and practical consequences. *Allergol Select*, 2021. 5: p. 26-28.
24. CDC. Interim Considerations: Preparing for the Potential Management of Anaphylaxis After COVID-19 Vaccination. 2020 22 January 2021]; Available from: <https://www.cdc.gov/vaccines/covid-19/clinical-considerations/managing-anaphylaxis.html>.
25. Glover RE, et al. Vaccinating against covid-19 in people who report allergies. *BMJ*, 2021. 372: p. n120.
26. Honda-Okubo Y, et al. Severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus vaccines formulated with delta inulin adjuvants provide enhanced protection while ameliorating lung eosinophilic immunopathology. *J Virol*, 2015. 89(6): p. 2995-3007.
27. Liu L, et al. Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection. *JCI Insight*, 2019. 4(4).
28. Tseng CT, et al. Immunization with SARS coronavirus vaccines leads to pulmonary immunopathology on challenge with the SARS virus. *PLoS One*, 2012. 7(4): p. e35421.

29. Weingartl H, et al. Immunization with modified vaccinia virus Ankara-based recombinant vaccine against severe acute respiratory syndrome is associated with enhanced hepatitis in ferrets. *J Virol*, 2004. 78(22): p. 12672-6.
30. Yasui F, et al. Prior immunization with severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus (SARS-CoV) nucleocapsid protein causes severe pneumonia in mice infected with SARS-CoV. *J Immunol*, 2008. 181(9): p. 6337-48.
31. Houser KV, et al. Enhanced inflammation in New Zealand white rabbits when MERS-CoV reinfection occurs in the absence of neutralizing antibody. *PLoS Pathog*, 2017. 13(8): p. e1006565.
32. Haynes BF, et al. Prospects for a safe COVID-19 vaccine. *Sci Transl Med*, 2020. 12(568).
33. Shukla R, et al. Antibody-Dependent Enhancement: A Challenge for Developing a Safe Dengue Vaccine. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020. 10: p. 572681.
34. Hadinegoro SR, et al. Efficacy and Long-Term Safety of a Dengue Vaccine in Regions of Endemic Disease. *N Engl J Med*, 2015. 373(13):1195-206.
35. Jaume M, et al. Anti-severe acute respiratory syndrome coronavirus spike antibodies trigger infection of human immune cells via a pH- and cysteine protease-independent FcγR pathway. *J Virol*, 2011. 85(20):10582-97.
36. Wan Y, et al. Molecular Mechanism for Antibody-Dependent Enhancement of Coronavirus Entry. *J Virol*, 2020. 94(5).
37. Wang SF, et al. Antibody-dependent SARS coronavirus infection is mediated by antibodies against spike proteins. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014. 451(2): p. 208-14.
38. Chin J, et al. Field evaluation of a respiratory syncytial virus vaccine and a trivalent parainfluenza virus vaccine in a pediatric population. *Am J Epidemiol*, 1969. 89(4): p. 449-63.
39. Fulginiti VA, et al. Respiratory virus immunization. I. A field trial of two inactivated respiratory virus vaccines; an aqueous trivalent parainfluenza virus vaccine and an alum-precipitated respiratory syncytial virus vaccine. *Am J Epidemiol*, 1969. 89(4): p. 435-48.
40. Kim HW, et al. Respiratory syncytial virus disease in infants despite prior administration of antigenic inactivated vaccine. *Am J Epidemiol*, 1969. 89(4): p. 422-34.
41. Libster R, et al. Early High-Titer Plasma Therapy to Prevent Severe Covid-19 in Older Adults. *N Engl J Med*, 2021.
42. EMA. Assessment report: Comirnaty. 2020.
43. FDA. Emergency Use Authorization (EUA) for an Unapproved Product Review Memorandum: Application number 27073. 2020.
44. FDA. Emergency Use Authorization (EUA) for an Unapproved Product Review Memorandum: Application number 27034. 2020.
45. Dearlove B, et al. A SARS-CoV-2 vaccine candidate would likely match all currently circulating variants. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020. 117(38): p. 23652-23662.
46. Rausch JW, et al. Low genetic diversity may be an Achilles heel of SARS-CoV-2. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020. 117(40): p. 24614-24616.
47. Callaway E. Fast-spreading COVID variant can elude immune responses, in *Nature*.
48. Wang Z, et al. mRNA vaccine-elicited antibodies to SARS-CoV-2 and circulating variants. *bioRxiv*, 2021.
49. Wu K, et al. mRNA-1273 vaccine induces neutralizing antibodies against spike mutants from global SARS-CoV-2 variants. *bioRxiv*, 2021.
50. Muik A, et al. Neutralization of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 pseudovirus by BNT162b2 vaccine-elicited human sera. *Science*, 2021.
51. Wibmer CK, et al. SARS-CoV-2 501Y.V2 escapes neutralization by South African COVID-19 donor plasma. *bioRxiv*, 2021.
52. Baum A, et al. Antibody cocktail to SARS-CoV-2 spike protein prevents rapid mutational escape seen with individual antibodies. *Science*, 2020. 369(6506): p. 1014-1018.
53. Greaney AJ, et al. Complete Mapping of Mutations to the SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain that Escape Antibody Recognition. *Cell Host Microbe*, 2021. 29(1): p. 44-57 e9.
54. Chakraborty S. Evolutionary and structural analysis elucidates mutations on SARS-CoV2 spike protein with altered human ACE2 binding affinity. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021. 534: p. 374-380.
55. Kemp SA, et al. Neutralising antibodies in Spike mediated SARS-CoV-2 adaptation. *medRxiv*, 2020.
56. Atlani-Duault L, et al. Immune evasion means we need a new COVID-19 social contract. *The Lancet Public Health*, 2021.
57. Juraska M, et al. Viral genetic diversity and protective efficacy of a tetravalent dengue vaccine in two phase 3 trials. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018. 115(36): p. E8378-E8387.

58. Neafsey DE, et al. Genetic Diversity and Protective Efficacy of the RTS,S/AS01 Malaria Vaccine. *N Engl J Med*, 2015. 373(21): p. 2025-2037.
59. Neidich SD, et al. Antibody Fc effector functions and IgG3 associate with decreased HIV-1 risk. *J Clin Invest*, 2019. 129(11): p. 4838-4849.
60. Dolgin E. Search for better COVID vaccines confounded by existing rollouts. *Nature*, 2021. 589(7842): p. 340-341.
61. Evaluation, W.H.O.A.H.E.G.o.t.N.S.f.C.-V., et al. Placebo-Controlled Trials of Covid-19 Vaccines - Why we Still Need Them. *N Engl J Med*, 2020.
62. Follmann D, et al. Assessing Durability of Vaccine Effect Following Blinded Crossover in COVID-19 Vaccine Efficacy Trials. *medRxiv*, 2020.
63. ZonMW. Welk onderzoek naar vaccinatie wordt gedaan? 2020; Available from: <https://www.zonmw.nl/nl/over-zonmw/coronavirus/onderzoek-naar-corona-en-covid-19/vaccinatie/>

De opkomst van variants of concern van SARS-CoV-2

Erik Vogelzang, Bettie Voordouw, Jacco Wallinga, Don Klinkenberg, Dirk Eggink, Harry Vennema, Chantal Reusken

Samenvatting

RNA-virussen zoals SARS-CoV-2 muteren voortdurend tijdens de vermenigvuldiging van het virale genoom door een gebrekkige proofreading-capaciteit. Daarnaast zullen er door de langdurige doorgaande circulatie van het virus in de mens en de op dit moment continue veranderende selectiedruk op het virus in toenemende mate varianten verschijnen. Mutaties in functionele domeinen van het virus kunnen leiden tot virusvarianten die geïntensiveerd onderzoek naar de mogelijk consequenties hiervan noodzakelijk maken. Om de verspreiding van deze varianten nauwgezet te volgen is hiervoor een adequate kiemsurveillance noodzakelijk. Wereldwijd zijn al diverse variants of concern (VOC's) gedetecteerd. In december 2020 werd zowel in het Verenigd Koninkrijk (VK) als in Zuid-Afrika melding gemaakt van nieuwe varianten (respectievelijk B.1.1.7 en B.1.351). Sindsdien zijn nieuwe VOC's en VOI's (variants of interest) in Brazilië, India en Engeland gedetecteerd (respectievelijk B.1.1.28.p1, B1.617.2 en B1.1.7+E484K). Binnen Nederland werden deze varianten in een vroeg stadium van de verspreiding via de nationale SARS-CoV-2-kiemsurveillance of het sequencen van SARS-CoV-2 bij reizigers met een zekere reishistorie opgemerkt. De toename in de prevalentie van de B.1.1.7 in de aselechte steekproeven in de surveillance werd gebruikt om het verloop van de SARS-CoV-2-epidemie in Nederland te modelleren voor beleid. Verder onderzoek en surveillance zullen moeten laten zien wat de eventuele klinische en epidemiologische gevolgen zijn van deze en mogelijke toekomstige VOC's en VOI's, zowel in Nederland als mondiaal.

Introductie

Eind december 2019 werd voor het eerst melding gemaakt van een uitbraak met het severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in Wuhan, China. Hierop volgde wereldwijd de snelle verspreiding van SARS-CoV-2, waarbij de eerste melding van een casus in Nederland op 27 februari 2020 plaatsvond. RNA-virussen zoals SARS-CoV-2 muteren voortdurend tijdens de vermenigvuldiging van het virale genoom door een gebrekkige proofreading-capaciteit. Hierdoor ontstaan en circuleren er vele varianten van SARS-CoV-2 [1]. Door de langdurige doorgaande circulatie van het virus in de mens en de op dit moment continue veranderende selectiedruk op het virus, bijvoorbeeld door anthropozoönotische spill-over en een toenemende inzet van vaccins en therapieën, zullen er steeds meer variaties opduiken die het virus een fenotypisch voordeel geven maar mogelijk voor de mens nadelig zijn.

Een van de eiwitten van het virus die nauwlettend

WHO COVID-19 referentie laboratorium,
Centrum voor Infectieziekten bestrijding, RIVM
Mr. drs. E.H. Vogelzang, AIOS medische
microbiologie
Dr. A.C.G. Voordouw, arts-microbioloog,
klinische virologie
Prof. dr. J. Wallinga, hoofd afdeling Modellering
van Infectieziekten
Dr. D. Klinkenberg, senior modelleur
Dr. D. Eggink, viroloog
Dr. H. Venema, viroloog
Dr. C.B.E.M. Reuskens, topexpert virologie.
Correspondentieadres: erik.vogelzang@rivm.nl

gevolgd worden voor het optreden van functionele mutaties is het zogeheten spike-eiwit (S). Met dit eiwit hechten de virusdeeltjes zich aan het celoppervlak; ze zijn daarmee essentieel voor het virus om cellen te infecteren. Veranderingen in het spike-eiwit kunnen infectiviteit of besmettelijkheid van het virus mogelijk veranderen. Bovendien is tegen het spike-eiwit een groot deel van onze specifieke (neutraliserende) afweer gericht. Een van de eerste mutaties die wereldwijd de overhand kregen is de spike-eiwit D614G-mutatie, die mogelijk een verhoogde kans op transmissie geeft [2].

Sindsdien is de genetische diversiteit van het virus gradueel toegenomen, inclusief mutaties in het spike-eiwit. Deze diversificatie heeft geleid tot een groot aantal verschillende genetische varianten, ook wel lineages of clades genaamd. Sommige van deze varianten bevatten mutaties in domeinen waarvan we weten dat deze belangrijk zijn voor besmettelijkheid en/of immuniteit.

Schattingen laten zien dat de mutatiesnelheid in het genoom van SARS-CoV-2 ongeveer één tot twee mutaties per maand is, laag in vergelijking met andere RNA-virussen [3]. Verschillende mechanismen kunnen ten grondslag liggen aan het versneld ontstaan van nieuwe varianten waaronder de eerder genoemde toegenomen selectiedruk door toepassing van (langdurige) antivirale therapieën en vaccin-geïnduceerde immuniteit. Eerder zijn al hogere mutatiefrequenties van SARS-CoV-2 beschreven bij immuungecompromitteerde patiënten met een chronische SARS-CoV-2-infectie [4]. Daarnaast kunnen nieuwe varianten versneld ontstaan door de infectie bij andere soorten, zoals nertsen of tijgers, en door mutaties in het replicase-enzym die een negatieve invloed hebben op de gebrekkige proofreading. Recent zijn diverse varianten ontstaan met een opvallend aantal mutaties in het spike-eiwit.

In december werd er vanuit het Verenigd Koninkrijk (VK) melding gemaakt van een nieuwe variant, genoemd Variant of Concern, year 2020, month 12, variant 01 (VOC202012/01, B.1.1.7, 501Y.V1), met negen additionele mutaties in het spike-eiwit [5]. Andere 'variants of concern' zijn recent

gedetecteerd in Zuid-Afrika (B.1.351) en Brazilië (B.1.1.28.p1) [6].

Het ontstaan en de verspreiding van de verschillende varianten met mutaties in functionele domeinen van het virus leiden tot geïntensiveerd onderzoek naar de mogelijk consequenties hiervan voor klinisch beloop, diagnostiek en effectiviteit van de gebruikte vaccins.

Epidemiologie en kiemsurveillance

In december liet epidemiologisch onderzoek in Zuidoost-Engeland een onverwachte toename zien van het aantal SARS-CoV-2-infecties. Er was sprake van een verdrievoudiging van het tweewekelijks gerapporteerde aantal infecties. Uit sequencing bleek dat een substantieel deel van SARS-CoV-2 uit deze verheffing tot een nieuw fylogenetische lineage cluster behoorde. Deze variant, B.1.1.7, wordt op 14 december aan de WHO gemeld [7]. Uit retrospectief onderzoek blijkt dat deze variant al voor het eerst in september aanwezig was in monsters van twee casussen in het VK. Na de snelle verspreiding binnen het VK zijn er vanaf eind december ook gevallen gevonden in Europa (onder meer België, Denemarken, Frankrijk, Duitsland, Nederland, Italië, Noorwegen, Portugal, Spanje en Zweden), maar ook mondiaal in onder meer Australië, Canada, Israël, Jordanië en Zuid-Korea [8].

In november werd bij surveillance in Zuid-Afrika opgemerkt dat in drie provincies een nieuwe SARS-CoV-2-lineage, B.1.351, andere SARS-CoV-2-lineages had verdrongen. Op 18 december 2020 maakten de Zuid-Afrikaanse autoriteiten melding van deze nieuwe variant (B.1.351) [9].

Sommige varianten kunnen potentieel zorgen voor een verhoogde kans op transmissie, ernstiger ziektebeloop, een toename van herinfecties en verminderde vaccineffectiviteit. Het tijdig zicht hebben op de aanwezigheid en/of circulatie van specifieke (nieuwe) varianten is dan ook noodzakelijk. Dit gebeurt in Nederland via het nationale kiemsurveillanceprogramma en via sequenzen in specifieke situaties. Deze specifieke situaties kunnen zich bijvoorbeeld voordoen bij bijzondere casuïstiek, in het kader van intramurale

infectieziektepreventie, uitbraken met een bijzondere signatuur of binnen bron- en contactopsporing in het geval van bijvoorbeeld een bijzondere reishistorie.

De kiemsurveillance is gebaseerd op het sequencen van een aselechte steekproef van positieve casussen verspreid over Nederland. Dit gebeurt in een samenwerkingsverband van een groot aantal laboratoria verspreid over Nederland. Uit deze kiemsurveillance kwam naar voren dat in Nederland het aandeel B.1.1.7 sinds het begin van 2021 is toegenomen en nu de dominante lineage is. Data uit de kiemsurveillance worden direct gebruikt in modellering van het verloop van de epidemie. Maar ook onder andere met betrekking tot bestrijdingsmaatregelen en de aantallen casussen, aantallen bezette ziekenhuisbedden en benodigde IC-capaciteit. Daarnaast zijn in de kiemsurveillance de Zuid-Afrika-variant, de VK-variant met E484K-mutatie en de Braziliaanse variant (B.1.1.28.p1) geïdentificeerd. Tevens werd voor het eerst in december 2020 in India een VOI gedetecteerd (B1.617.2) die recent in de Nederlandse kiemsurveillance is gevonden. In de laatste rapportage van 24 mei jl. door het ECDC is deze variant nu ook als VOC geclassificeerd [10]. De actuele stand van zaken met betrekking tot VOC's en VOI's is terug te vinden op de website van het RIVM [11].

Mutaties en gevolgen

In de VOC B.1.1.7 zijn 14 substituties en drie deleties gevonden, waaronder de volgende mutaties in het spike-eiwit: 69-70-deletie, Y144-deletie, N501Y, A570D, P681H, T716I, S982A en D1118H [12]. Wat de gevolgen zijn van deze constellatie aan mutaties voor de eigenschappen van het virus is nog niet geheel duidelijk. De mutatie N501Y beïnvloedt waarschijnlijk de affiniteit voor binding van het virus aan de ACE-2-receptor [13,14] en verondersteld wordt dat deze mutatie, al dan niet in combinatie met de deletie 69-70, de besmettelijkheid van het virus verhoogt. In het rapport op 18 december 2020 van de adviesgroep New and Emerging Respiratory Virus Threats (NERVTAG) van de Britse overheid wordt ervan uitgegaan dat de transmissie 71 procent

(95 procent BI 67 procent tot 75 procent) hoger is dan van de 'klassieke' SARS-CoV-2-varianten zonder de N501Y-mutatie en 69-70-deletie. Verder ligt de geschatte toename van de R-waarde tussen de 0,39 en 0,93 [15].

Het receptorbindingsdomein (RBD) van het spike-eiwit en het n-terminale domein (NTD) zijn twee belangrijke targets voor beschermende antistoffen. Positie 501 is onderdeel van het RBD. Een verandering op deze positie kan dus negatieve gevolgen hebben voor de binding van beschermende (neutraliserende) antistoffen aan de receptor en de bescherming na infectie. De mutatie N501Y lijkt echter geen drastische invloeden te hebben op de werking van neutraliserende antistoffen [16-19]. Er zijn zeer preliminaire gegevens dat de virale load bij patiënten geïnfecteerd met B.1.1.7 is toegenomen. Meer onderzoek naar de mate van toename in specifieke cohorten is noodzakelijk.

De Zuid-Afrika-variant is in Nederland al meerdere malen aangetroffen in de kiemsurveillance of in relatie tot een reisgeschiedenis naar Zuid-Afrika en hieruit volgend BCO. Naast de mutatie N501Y komt er in deze variant een aantal andere mutaties in het spike-eiwit voor, waaronder K417N en E484K. Er wordt verondersteld dat mutatie E484K, net als N501Y, de affiniteit van het spike-eiwit van het virus voor de ACE2-receptor verhoogt. Daarnaast kunnen de mutaties K417N en E484K ook de effectiviteit van neutraliserende antistoffen negatief beïnvloeden, hetgeen consequenties kan hebben voor de effectiviteit van de op dit moment beschikbare (mRNA en virale vector) vaccins. Daarnaast lijkt het dat deze variant mogelijk verminderd geneutraliseerd wordt door specifieke antistoffen en convalescent plasma van patiënten uit de eerste golf [20]. Moderna heeft een preliminair rapport gepubliceerd waaruit bleek dat het neutraliserend vermogen voor de Zuid-Afrika-variant met een factor 6 is afgenomen [17]. In hoeverre dit daadwerkelijk verminderde bescherming tot gevolg heeft dient nader onderzocht te worden. Preliminaire gegevens wijzen eveneens op ongeveer een 50 procent toegenomen besmettelijkheid van deze variant [21]. Ook in Brazilië (Manaus en omstreken en bij

vier reizigers naar Japan) is een variant (B.1.1.28.p1) opgedoken met dit trio aan mutaties in het spike-eiwit, alleen bevindt zich de mutatie op positie K417T [22]. Een recente modeleringsstudie laat een 2,6 keer (95 procent betrouwbaarheidsinterval 2,4 – 2,8) verhoogde transmissie zien van B.1.1.28.p1 in vergelijking tot andere varianten [23]. Een ander studie gaat uit van een 1,7 tot 2,4 maal verhoogde transmissie [24]. Daarbij lijkt het volgens het gebruikte model dat een eerdere infectie met een niet-P1-variant in 57 tot 79 procent van de gevallen bescherming biedt tegen een infectie met een B.1.1.28.p1. Inmiddels is bekend geworden dat er in het VK B.1.1.7-varianten circuleren die ook de mutatie E484K hebben verworven [25].

Bij de B.1.617.2-variant zijn er onder meer vier mutaties in het spike-eiwit (L452R, T478K, D614G, P681R). Daarbij zijn er indicaties dat er sprake is van een verhoogde kans op transmissie bij deze variant ten opzichte van B.1.1.7 [10,26,27].

Ziektebeloop

Bij een eerste inschatting van NERVTAG leek het dat er geen aanwijzingen zijn dat de B.1.1.7 vaker leidt tot een ernstiger ziektebeloop. Echter, op 21 januari 2021 wordt in een nieuwe publicatie van NERVTAG gemeld dat een toename van ziekte-ernst en overlijdensrisico bij B.1.1.7 in vergelijking met non-B.1.1.7-varianten toch niet geheel uitgesloten kon worden [28]. In een recent gepubliceerde 'matched cohort study' werd een HR van 1,64 (95 procent betrouwbaarheidsinterval 1,32 – 2,04) gevonden voor het risico op overlijden met B.1.1.7 in vergelijking tot eerdere circulerende SARS-CoV-2 varianten [29].

Bij de Zuid-Afrika-variant wijzen preliminaire data erop dat deze variant niet vaker zorgt voor een ernstig ziektebeloop [30]. Voor B.1.1.28.p1 is er in een modelleringsstudie een toename van de mortaliteit met 1,2 tot 1,9 keer, hoewel het onduidelijk is of de toename in mortaliteit komt door B.1.1.28.p1, capaciteitsgebrek van de zorg ter plaatse of door beide [24].

Voor de Indiase variant is nog onduidelijk of deze leidt tot een ernstiger ziektebeloop.

Diagnostiek

De deletie van 69-70 in het S-eiwit van B.1.1.7 beïnvloedt de detectie van SARS-CoV-2-RNA door sommige RT-PCR's die het S-gen als target gebruiken. Aangezien de in Nederland gebruikte diagnostische PCR's vaak gebaseerd zijn op meerdere targets heeft de aanwezigheid van deze deletie geen invloed gehad op de betrouwbaarheid van de huidige diagnostiek. S-gene target failures (SGTF, ook wel s-drop-outs genoemd) worden in sommige gevallen gebruikt om een inschatting te maken van de presentie van de Britse variant. De SGTF geven namelijk inzicht in de presentie van varianten met del 69-70; hierbij is sequencen wel noodzakelijk om te zien welk percentage van de SGTF de VK-variant betreft. Naast de B.1.1.7 circuleren er andere lineages met eenzelfde deletie op positie 69/70. Momenteel is nog onduidelijk wat de gevolgen van de mutaties in het S-eiwit en andere delen van SARS-CoV-2 op de diagnostische accuratesse van serologische en antigeentesten zijn. Ook voor de Zuid-Afrika-variant, de Braziliaanse en Indiase variant zal uit verder onderzoek moeten blijken welke invloed de mutaties hebben op het huidige diagnostische arsenaal.

Vaccins

Door de mutaties in het S-eiwit zijn er zorgen omtrent de huidige vaccins. Deze worden op verschillende platforms ontwikkeld, waarbij de basis voor bescherming gericht is op vorming van beschermende antistoffen tegen het spike-eiwit. De nu ontwikkelde en geregistreerde vaccins wekken beschermende antistoffen op tegen de circulerende stammen die bekend waren op het moment van het klinisch onderzoek voor registratie. Zoals hierboven aangegeven, bevatten de huidige VOC's diverse mutaties die de gevoeligheid voor deze beschermende antistoffen mogelijk verlagen.

Op het moment van schrijven [mei 2021] zijn er vier vaccins in de EU geregistreerd, het Pfizer/BionTech-, het Moderna-, het AstraZeneca- en het Janssen-vaccin. De eerste twee zijn gebaseerd op het mRNA-platform, de laatste twee op een virale vector. Het principe van mRNA-vaccins is dat het mRNA na injectie codeert voor productie van het

hele S-eiwit [31,32]. Beide hebben een kleine modificatie om het S-eiwit (waartegen de antistoffen moeten worden gemaakt door de gastheer) te stabiliseren in de zogeheten 'prefusion'-confirmatie; dit is van belang voor de stabiliteit van de functie van het vaccin [33]. Het AstraZeneca-vaccin is gebaseerd op een recombinant replicatiedeficiënt chimpansee-adenovirus dat ook codeert voor het hele S-eiwit [34], echter zonder de modificatie voor S-eiwitstabilisatie.

Het vaccin van Janssen is gebaseerd op een recombinant replicatie-incompetent humaan adenovirus type 26 dat ook codeert voor het spike-eiwit in gestabiliseerde confirmatie [35]. In een recente, nog niet peer gereviewde studie lijkt er een minimale afname in effectiviteit te zijn van het Pfizer/BioNTech-vaccin en van het AstraZeneca-vaccin tegen B.1.617.2-variant in vergelijking met de B.1.1.7-variant [36]. Ook lijken sommige virusvarianten geassocieerd te zijn met een vermindering van virusneutraliserend vermogen van de antistoffen die door het vaccin worden opgewekt [17,37]. Of dit ook tot een verminderde bescherming leidt, kan hieruit echter niet zondermeer geconcludeerd worden. In de vaccins ontbreken andere viruscomponenten waartegen na natuurlijke infectie antistoffen gevormd kunnen worden. Uit verschillende experimenten blijkt dat mutaties in andere genoomsegmenten van het virus ook kunnen leiden tot het ontsnappen van het virus aan neutraliserende antistoffen [33]. Dit impliceert dat ze na infectie ook bijdragen aan de virusherkenning en opbouw van immuniteit. Een verminderde bescherming is echter ook afhankelijk van andere factoren, waaronder de sterkte van de virusneutralisatie na vaccinatie; bij een sterke respons kan een lichte vermindering van neutralisatie ten aanzien van bepaalde varianten een beperkt effect hebben op klinische bescherming en de invloed van de geïnduceerde virusspecifieke cellulaire respons. Wat dit uiteindelijk betekent voor de effectiviteit van het vaccinatieprogramma zal moeten blijken uit klinische studies in geografische gebieden met prevalentie variantcirculatie [37], (internationale) observationele studies of dierproeven. Om de actuele ontwikkelingen bij te

houden rond de verschillende vaccins zijn de European Public Assessment Reports (EPAR's) van deze vaccins op de website van de EMA interessant om te volgen [38].

Conclusie

In RNA-virussen zoals SARS-CoV-2 treden voortdurend mutaties op. Mutaties in functionele domeinen van het virus kunnen leiden tot virusvarianten die het noodzakelijk maken om geïntensiveerd onderzoek te doen naar de mogelijk consequenties hiervan, en om de verspreiding van deze varianten nauwgezet te volgen. Om deze varianten te detecteren en de mate van voorkomen te kunnen volgen, is onder andere een adequate kiemsurveillance noodzakelijk. Wereldwijd zijn al meerdere variants of concern gedetecteerd. In december 2020 werd er zowel in het VK als in Zuid-Afrika melding gemaakt van nieuwe varianten (respectievelijk B.1.1.7 en B.1.351). Sinds december 2020 werden er nieuwe varianten in Brazilië en India gedetecteerd (respectievelijk B.1.1.28.p1 en B.1.617.2). Binnen Nederland werden deze varianten in een vroeg stadium van de verspreiding via de nationale SARS-CoV-2-kiemsurveillance of het sequencen van SARS-CoV-2 bij reizigers met een zekere reishistorie opgemerkt. De toename in de prevalentie van de B.1.1.7 in de aselecte steekproeven in de surveillance is gebruikt om het verloop van de SARS-CoV-2-epidemie in Nederland te modelleren voor beleid. Verder onderzoek en surveillance zullen moeten laten zien wat de eventuele klinische en epidemiologische gevolgen zijn van deze en mogelijke toekomstige varianten, zowel in Nederland als mondiaal. Momenteel wordt de kiemsurveillance samen met laboratoria in Nederland verder vormgegeven.

Referenties

1. Koyama T, Platt D, Parida L. Variant analysis of SARS-CoV-2 genomes. *Bull World Health Organ.* 2020;98:495-504. doi:10.2471/BLT.20.253591.
2. Volz E, Hill V, McCrone JT, et al. Evaluating the Effects of SARS-CoV-2 Spike Mutation D614G on

- Transmissibility and Pathogenicity. *Cell*. 2021;184:64-75.e11. doi:10.1016/
3. Duchene S, Featherstone L, Haritopoulou-Sinanidou M, et al. Temporal signal and the phylodynamic threshold of SARS-CoV-2. *Virus Evol.* 2020;6:veaa061. doi:10.1093/ve/veaa061.
 4. Choi B, Choudhary MC, Regan J, et al. Persistence and Evolution of SARS-CoV-2 in an Immunocompromised Host. *N Engl J Med.* 2020;383:2291-3. doi:10.1056/NEJMc2031364.
 5. COVID 19 Genomics UK Consortium: COG-UK update on SARS-CoV-2 Spike mutations of special interest Report 1. 2020.
 6. ECDC. Risk related to the spread of new SARS-CoV-2 variants of concern in the EU/EEA – first update. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/covid-19-risk-assessment-spread-new-variants-concern-eueea-first-update> (accessed 1 Feb 2021).
 7. World Health Organization. SARS-CoV-2 Variant – United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland. <https://www.who.int/csr/don/21-december-2020-sars-cov2-variant-united-kingdom/en/> (accessed 1 Feb 2020).
 8. ECDC. Risk Assessment: Risk related to spread of new SARS-CoV-2 variants of concern in the EU/EEA. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/covid-19-risk-assessment-spread-new-sars-cov-2-variants-eueea> (accessed 1 Feb 2021).
 9. World Health Organization. SARS-CoV-2 Variants. <https://www.who.int/csr/don/31-december-2020-sars-cov2-variants/en/> (accessed 1 Feb 2021).
 10. ECDC. SARS-CoV-2 variants of concern as of 24 May 2021. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern> (accessed 24 May 2021).
 11. RIVM. Varianten van het coronavirus SARS-CoV-2. <https://www.rivm.nl/coronavirus-covid-19/virus/varianten> (accessed 4 Mar 2021).
 12. Rambaut A, Loman N, Pybus O et al. Preliminary genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in the UK defined by a novel set of spike mutations. <https://virological.org/t/preliminary-genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-the-uk-defined-by-a-novel-set-of-spike-mutations/563>. (accessed 1 Feb 2021).
 13. Gu H, Chen Q, Yang G, et al. Adaptation of SARS-CoV-2 in BALB/c mice for testing vaccine efficacy. *Science.* 2020;369:1603-7. doi:10.1126/science.abc4730.
 14. Starr TN, Greaney AJ, Hilton SK, et al. Deep Mutational Scanning of SARS-CoV-2 Receptor Binding Domain Reveals Constraints on Folding and ACE2 Binding. *Cell.* 2020;182:1295-310.e20. doi:https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.012.
 15. New and Emerging Respiratory Virus Group Threats Advisory Group. NERVTAG meeting on SARS-CoV-2 variant under investigation VUI-202012/01. <https://khub.net/documents/135939561/> et al. (accessed 1 Feb 2021).
 16. Rathnasinghe R, Jangra S, Cupic A, et al. The N501Y mutation in SARS-CoV-2 spike leads to morbidity in obese and aged mice and is neutralized by convalescent and post-vaccination human sera. *medRxiv* 2021;:2021.01.19.21249592.
 17. Wu K, Werner AP, Moliva JI, et al. mRNA-1273 vaccine induces neutralizing antibodies against spike mutants from global SARS-CoV-2 variants. *bioRxiv* 2021;:2021.01.25.427948.
 18. Krammer F, Srivastava K, Simon V. Robust spike antibody responses and increased reactogenicity in seropositive individuals after a single dose of SARS-CoV-2 mRNA vaccine. *medRxiv* 2021;:2021.01.29.21250653.
 19. Wang Z, Schmidt F, Weisblum Y, et al. mRNA vaccine-elicited antibodies to SARS-CoV-2 and circulating variants. *bioRxiv Prepr Serv Biol.* 2021. doi:10.1101/2021.01.15.426911
 20. Wibmer CK, Ayres F, Hermanus T, et al. SARS-CoV-2 501Y.V2 escapes neutralization by South African COVID-19 donor plasma. *bioRxiv* 2021;:2021.01.18.427166.
 21. Carl AB Pearson, Timothy W Russell, Nicholas G Davies, Adam J Kucharski, CMMID COVID-19 working group, W John Edmunds RME. Estimates of severity and transmissibility of novel SARS-CoV-2 variant 501Y.V2 in South Africa. <https://cmmid.github.io/topics/covid19/sa-novel-variant.html> (accessed 1 Feb 2021).
 22. Faria NR, Claro IM CD, et al. Genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in Manaus: preliminary findings. *Virological.* <https://virological.org/t/genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-manaus-preliminary-findings/586> (accessed 1 Feb 2021).
 23. Coutinho RM, Marquitti FMD, Ferreira LS, et al. Model-based estimation of transmissibility and reinfection of SARS-CoV-2 P.1 variant. *medRxiv* 2021;:2021.03.03.21252706.
 24. Faria NR, Mellan TA, Whittaker C, et al. Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus,

Brazil. *Science* (80-) 2021;:eabh2644. doi:10.1126/science.abh2644

25. Phylogenetic analysis of SARS-CoV-2 clusters in their international context - cluster S.E484. https://nextstrain.org/groups/neherlab/ncov/S.E484?c=gt-S_484,501,570&label=clade:20I/501Y.V1&m=div (accessed 1 Feb 2021).

26. Wise J. Covid-19: UK cases of variant from India rise by 160% in a week. *BMJ*. 2021;373. doi:10.1136/bmj.n1315.

27. Scientific Advisory Group for Emergencies. SAGE 89 minutes: Coronavirus (COVID-19) response, 13 May 2021. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/988403/S1236_Eighty-ninth_SAGE.pdf (accessed 24 May 2021).

28. New and Emerging Respiratory Virus Group Threats Advisory Group. NERVTAG note on B.1.1.7 severity. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/955239/et_al_ (accessed 1 Feb 2021).

29. Challen R, Brooks-Pollock E, Read JM, et al. Risk of mortality in patients infected with SARS-CoV-2 variant of concern 202012/1: matched cohort study. *BMJ* 2021;372. doi:10.1136/bmj.n579

30. Makoni M. South Africa responds to new SARS-CoV-2 variant. *Lancet* (London, England). 2021;397:267. doi:10.1016/S0140-6736(21)00144-6

31. European Medicines Agency. Assessment report COVID-19 mRNA vaccine (nucleoside-modified). https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report_en.pdf (accessed 1 Feb 2021).

32. European Medicines Agency. Assessment report COVID-19 Vaccine Moderna. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/covid-19-vaccine-moderna-epar-public-assessment-report_en.pdf (accessed 1 Feb 2021).

33. Xia X. Domains and Functions of Spike Protein in Sars-Cov-2 in the Context of Vaccine Design. *Viruses*. 2021;13. doi:10.3390/v13010109

34. European Medicines Agency. EMA recommends COVID-19 Vaccine AstraZeneca for authorisation in the EU. <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-recommends-covid-19-vaccine-astrazeneca-authorisation-eu> (accessed 1 Feb 2021).

35. European Medicines Agency. Assessment report COVID-19 Vaccine Janssen. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/covid-19-vaccine-janssen-epar-product-information_en.pdf (accessed 24 May 2021).

36. Lopez Bernal J, Gower C, Gallagher E, et al. Effectiveness of COVID-19 vaccines against the B.1.617.2 variant 2021. <https://khub.net/documents/135939561/430986542/> et al (.

37. Moore JP, Offit PA. SARS-CoV-2 Vaccines and the Growing Threat of Viral Variants. *JAMA Published Online First*: 28 January 2021. doi:10.1001/jama.2021.1114.

38. European Medicines Agency. Human medicine European public assessment report (EPAR). https://www.ema.europa.eu/en/medicines/field_ema_web_categories%253Aname_field/Human/ema_group_types/ema_medicine (accessed 1 Feb 2021).



Dr. Abraham Capadose en de dierlijke vaccine

Jan Peter Verhave

Daar hing hij, Brammie Capadose, midden tussen zijn familie en voorouders, in het Joods Historisch Museum te Londen. Hij moest wel de latere dokter Abraham Capadose zijn, die onvermoeibare bestrijder van de vaccinatie tegen pokken in ons land (1795-1874).

Ik had mij met het vaccinatieprobleem onder rechtzinnige protestanten in de 19e eeuw beziggehouden en wist dat zijn zoon Isaïc Capadose met zijn gezin naar Engeland was verhuisd, nadat vader Abraham was overleden; kennelijk had hij de hele collectie familieportretten meegenomen. Ik vroeg mij af of de Brammie van het schilderij al gevaccineerd zou kunnen zijn. Ik schat hem op zeven jaar en dan moet het portret dateren van 1802. Waarschijnlijk was het nog niet gebeurd, want de publicatie van dr. Edward Jenner was zojuist

vertaald en verschenen in het Nederlands. De vaccinatiecampaagne moest nog op gang komen. Ongetwijfeld heeft zijn oom, Immanuel Capadose, een alom geacht Amsterdams geneesheer en actief vaccinator, de kinderen van zijn broer enige tijd later zelf de pokstof toegediend.

Het gezin Capadose, Portugees-joodse Amsterdammers, was welgesteld, liberaal en weinig religieus. Brammie was een astmatisch kind, dat moest leven met voortdurende 'aamborstigheid'. Onderwijs kreeg hij aan huis en later ging hij naar de Latijnse School, om vervolgens geneeskunde in Leiden te gaan studeren. Hij moest immers zijn kinderloze oom Immanuel opvolgen. Maar zijn behoefte aan verdieping en kennis van waarheid reikte verder dan het medische vlak.



Brammie Capadose (olieverf, plm 1802, Jewish Museum London)

In Leiden kwam hij in contact met een groep studenten die 'privatissima' volgden bij Willem Bilderdijk, een bevlogen geleerde, die niet ophield zijn pupillen ervan te overtuigen dat de Verlichting, ja alles uit de vorige eeuw, slecht was: de mens verhief zich tot alweter en liet zich aan God noch gebod iets gelegen liggen.

Abraham promoveerde en ging als medicus werken in de Amsterdamse praktijk van zijn oom. Zo heeft hij veel kinderen gevaccineerd. Maar de gedachten van Bilderdijk en de vriendenkring lieten hem niet los. Samen met zijn vriend Isaïc da Costa nam hij het besluit om christen te worden. In 1822 werden ze beiden gedoopt.

Isaïc schreef bij die gelegenheid een pamflet "Bezwaren tegen den Geest der Eeuw", dat enorm veel stof deed opwaaien in de gezeten, liberale kringen. Wat dacht dat jongmens wel, die nieuwbakken christen!

Ook Abraham vond dat hij als medicus zijn vak aan de nieuw gevonden Waarheid moest toetsen. Hij stoorde zich erg aan de vergoddelijking van Jenner, bij het 25-jarig jubileum van diens ontdekking. Bovendien concludeerde hij dat hijzelf en zijn collega-vaccinatoren iedereen maar inentten, zonder aandacht voor de eventuele schadelijke gevolgen. Dat kon niet goed gaan, vond hij nu. Kinderen zouden allerlei bijwerkingen krijgen en vroegrijp worden. Verplichting tot vaccinatie druiste in tegen de ouderlijke liefde! Capadose gunt ons een kijkje in het vaccinatielokaal:

"De toeloop van moeders, waarvan een aantal de afkeer voor de vaccine, die het moederlijk hart als het ware is ingeschapen, met huivering trachten te verbannen. Die menigte schreiende kinderen, waarvan het een voor, het ander na, in groot getal en in een zeer kort tijdsbestek als redeloze dieren getekend of gestempeld worden.

Een walgelijke en ontorende geneeskunde, die de voorzorg en het wetenschappelijk onderzoek niet in acht neemt."

Meer nog, met vaccinatie zou men God voor de voeten lopen en eigenmachtig Zijn plan doorkruisen. Het gevoel van beschermd te zijn was vals, want als de kinderziekte voor iemand in het goddelijk plan lag, dan kreeg je die toch wel.

"Wat zou u van een Vader zeggen die zijn kinders met de tuchtroede wil gaan straffen, maar hen vooraf roept en hen onder hun rokjes een soort van harnas laat aantrekken waardoor zij de slagen òf niet òf minder zouden voelen?"

Geneesheren moesten zich bemoeien met zieken; het ziek maken van gezonde kinderen door de vaccinatie en ze iets in hun lichaam brengen waarvan de gevolgen niet te overzien waren, vond Capadose strijdig met de ethiek van de medicus!

Zijn eerste boekje "Bestrijding der vaccine, of De vaccine aan de beginselen der godsdienst, der rede en der ware geneeskunde getoetst" verscheen in 1823. Net als Da Costa kreeg ook hij een stortvloed van verontwaardiging, woede en sarcasme over zich heen. Maar hij bleef bij zijn standpunt. Net als bij zijn bekering bleef hij standvastig en strijdbaar en leverde hij repliek op al die hooggeleerde gestrenges



De jonge doctor Abraham Capadose (steendruk 1851, naar een vroeger Daguerrotype)

kritiek, en bijna elk jaar publiceerde hij een nieuw strijdschrift. Het doormaken van de kinderziekte zou, volgens hem, het lichaam sterker maken, ook in het verweer tegen andere ziekten. De vaccinatie verstoorde juist die natuurlijke ontwikkeling.

In 1827 moest hij zijn werk als geneesheer opgeven door de voortdurende aanvallen van benauwdheid. Hij werd een soort lekenprediker en voelde het als zijn opdracht om op te roepen tot rechtzinnigheid binnen de steeds liberaler

wordende Nederlands Hervormde Kerk

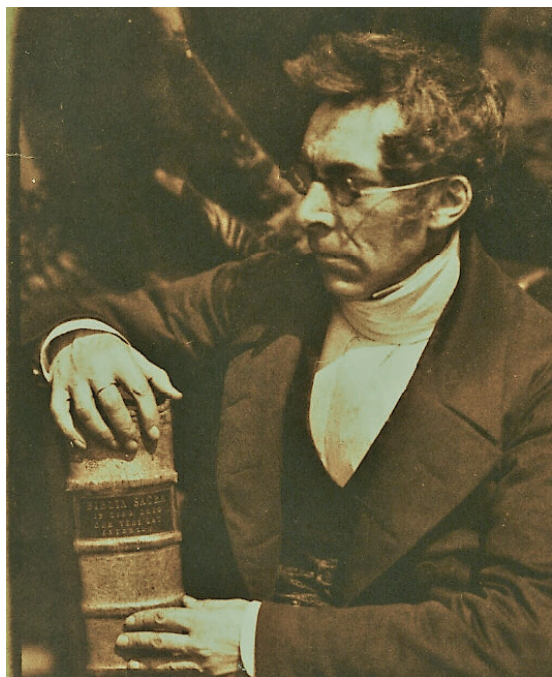
Hij bleef nog herhaaldelijk schrijven tegen de vaccinatie, zelfs toen zijn vriend Da Costa een zoontje verloor aan de gevreesde kinderziekte! Binnen de protestantse opwekkingsbeweging, het Réveil, waarvan Capadose deel uitmaakte, verloor hij steeds meer aanhang op dit punt. De meeste van zijn vrienden kwamen tot het inzicht dat de vaccinatie als een mogelijkheid beschouwd kon worden die in de schepping was ingebed, en die de Schepper bood.

Capadose vond verder argumenteren met zijn vrienden niet nuttig (zij lieten hun kinderen immers alleen maar uit angst vaccineren). Hij ging zich meer richten op de eenvoudige gelovigen en scherpte hen Godsvertrouwen in, zodat ze niet in verleiding kwamen om hun kinderen te laten vaccineren. Men zou zelfs het gevang moeten verkiezen boven gedwongen vaccinatie!

Capadose is oud geworden en beleefde nog de grote pokkenepidemie die Europa teisterde in 1871 en 1872. Zie je wel, schreef hij, ik heb gelijk gehad. Het kon niet goed gaan!

Abraham Capadose vond onder medici in Nederland geen medestrijders. Medestanders waren er misschien, maar niet in de rol die Capadose verkoos. Het tragische is dat juist onder zijn geloofgenoten, de bevindelijke vromen, de meeste slachtoffers te betreuren waren: naar schatting minstens de helft van de 20.000 aan de pokken overleden kinderen. Professor Helenius de Cock van de Theologische School te Kampen, die zelf was opgevoed met de overtuiging dat dr. Capadose meer vertrouwen verdiende dan alle ongelovige dokers bij elkaar, liet hij in 1871 zijn kinderen vaccineren. Maar hij bleef de gewetensnood van anderen respecteren en in de Tweede Kamer maakten de antirevolutionairen, zelf voor vaccinatie, zich sterk voor het recht op eigen keuze en verklaarden zij zich tegen de vaccinatiedwang.

Zo bleef een kleine groep gelovigen in de uiterst rechtzinnige flank van het protestantse volksdeel bij het onderwijs van hun dokter Capadose, en tot op vandaag verkiezen zij het om weerstand te bieden tegen de verleiding en morele drang van het



Capadose met de Biblia Sacra (calotype 1846, Edinburgh)

Nederlandse vaccinatieschema. Maar ook hun keuze wordt bepaald door groepsdrang, van binnen uit. Ook nu zijn er mensen die, wat betreft het coronavaccin, op dezelfde manier denken als Capadose. In de Bijbelgordel is hij niet vergeten en er wordt nog wel naar zijn teksten verwezen. Maar geleidelijk aan zijn er in die kringen nu wel meer ouders en jong volwassenen die zich daaraan ontworstelen.

The cooperation of the conservator of the Jewish Museum London, Mrs. Sarah Jillings, is thankfully acknowledged.

Andere publicaties van de auteur over dit onderwerp:

J.P. Verhave, "De Profeet en het Beest". In: *Is 't waar of niet? Ophefmakende publicaties uit de 'lange' negentiende eeuw. Jaarboek Geschiedenis Nederlands Protestantisme na 1800*, Meinema 2005, pp. 39-63.

Joh. Verhave en J.P. Verhave, "De Vaccinatiekwesie in het Réveil". In: *Aspecten van het Réveil*. Kok Kampen 1980, pp. 230-254.

Correspondentieadres van de auteur: jpverhave@gmail.com

Het Wells-Rileymodel bij SARS-CoV-2

Beperkingen en toepassing

Roberto Traversari, Anne Brouwer, Lucie Vermeulen, Piet Jacobs, Wim Maassen, Jack Schijven

Samenvatting

Om nader inzicht te krijgen in de besmettingsrisico's met SARS-CoV-2 in binnenruimten en welke factoren hierin een rol spelen, is er behoefte aan berekeningsmodellen waarmee we dit kunnen inschatten. De berekening van de kans op een individuele besmetting met Sars-CoV-2 via de aerogene route wordt momenteel vaak bepaald met het zogeheten Wells-Rileymodel. Bij de toepassing van dit model moeten echter een aantal essentiële uitgangspunten in acht worden genomen. Het model is feitelijk een basaal exponentieel kansmodel waarbij de zogeheten quantavariabele van groot belang is, en er wordt uitgegaan van ideale menging (de virusconcentratie is in de gehele ruimte identiek). In de quantavariabele zijn een groot aantal relevante aspecten opgenomen die niet expliciet worden weergegeven. Deze aspecten kunnen per situatie sterk verschillen. Hierdoor is het niet verantwoord om de hoeveelheid quanta uit een specifieke case in een andere situatie toe te passen. Een quantitative microbial risk assessment (QMRA) is hiervoor een betere methode. Een QMRA omvat namelijk een karakterisering van de relevante eigenschappen van een ziekteverwekker, een schatting van de blootstelling via een specifieke transmissieroute en een schatting van het infectierisico op basis van een dosis-responsmodel voor de pathogeen.

Abstract

In order to gain further insight into the contamination risks with SARS-CoV-2 in spaces and which factors play a role in this, there is a need for calculation models to estimate this. The chance of an individual contamination with Sars-CoV-2 through the aerogenic route is currently often determined with the so-called Wells-Riley model. When applying the Wells-Riley model several assumptions must be

considered. The model is actually a basic exponential probability model in which the quanta variable is of great importance and is based on ideal mixing (the virus concentration is identical throughout the space). The quanta variable contains many relevant aspects that are not explicitly stated. These aspects can differ greatly from situation to situation. As a result, it is not justified to apply the amount of quanta from a specific case in a different situation. A quantitative microbial risk assessment (QMRA) is a better method for this. A QMRA includes characterization of the relevant properties of a pathogen, estimation of exposure via a specific route of transmission, and if a dose-response model for the pathogen is available, estimation of the risk of infection.

Inleiding

Het Wells-Rileymodel is een model om de kans op een individuele besmetting via de aerogene route te berekenen. Dit model is ontwikkeld door Riley en collega's in een epidemiologische studie van een uitbraak van mazelen.

TNO Building Physics and Systems, Delft, dr. ing. R. Traversari, ir. P. Jacobs;
Royal HaskoningDHV, Nijmegen, ir. A. Brouwer;
Centre for Infectious Disease Control RIVM, Bilthoven, dr. ir. L.C. Vermeulen;
Royal HaskoningDHV, Rotterdam, Eindhoven University of Technology, Eindhoven, ir. W. Maassen;
RIVM, Bilthoven, department of Statistics, Informatics and Modelling, prof. dr. J.F. Schijven;
Utrecht University, Environmental Hydrogeology Group, department of Earth Sciences, prof. dr. J.F. Schijven. Correspondentieadres: roberto.traversari@tno.nl

Het model is gebaseerd op het concept van 'quantuminfectie' zoals voorgesteld door Wells in 1955 [1]. Het basismodel is als volgt:

$$P_i = \frac{C}{S} = 1 - \exp\left(-\frac{Iqpt}{Q}\right)$$

Waarin:

P_i : de kans op een individuele infectie

C : het aantal infectiegevallen

S : het aantal vatbare personen

I : het aantal besmettelijke personen

q : de hoeveelheid quanta per tijdseenheid in h^{-1}

p : het ademhalingsvolume per tijdseenheid in $m^3 h^{-1}$

t : de blootstellingstijd in h

Q : de ventilatiehoeveelheid van de ruimte met virusvrije lucht in $m^3 h^{-1}$

De hoeveelheid quanta per tijdseenheid kan niet rechtstreeks worden gemeten, maar wordt achteraf bepaald aan de hand van gegevens van een situatie in een ruimte waar besmettingen hebben plaatsgevonden. Hierbij is de maat voor de hoeveelheid besmettingen die hebben plaatsgevonden de zogeheten werkelijk gemeten attack rate. Deze kan dan gebruikt worden om de berekende kans op een besmetting met het model, P_i , overeen te laten komen. De hoeveelheid quanta is de variabele die het model passend maakt (oftewel fit) op de betreffende situatie. Het model beschrijft de werkelijkheid steeds beter als er meer gegevens van een situatie met vergelijkbare omgevingsfactoren gebruikt kunnen worden voor het fitten van het model.

Dit oorspronkelijke model wordt vaak verder uitgebreid door aanvullende zaken in de hoeveelheid quanta met een correctie te verdisconteren, zoals onder meer depositiesnelheid van deeltjes, inactivatiesnelheid door bijvoorbeeld UV, reductie van ingeademde deeltjes als gevolg van beschermingsmaatregelen [2-4].

Het Wells-Rileymodel is uitgebreid gebruikt bij het analyseren van de ventilatiestrategie en de associatie daarvan met luchtinfecties in klinische omgevingen [4-6]. Feitelijk betreft het een basaal exponentieel kansmodel met als uitkomstmaat de individuele kans op een besmettingen met een respiratoir virus.

Het Wells-Rileymodel wordt in toenemende mate gebruikt om de kans op besmettingen in een ruimte via de lucht op een afstand groter dan 1,5 m van een met SARS-CoV-2 besmet persoon te berekenen. Deze uitkomstmaat, individuele kans op een besmetting, kan echter niet worden getoetst aan een breed gedragen en maatschappelijk geaccepteerde grenswaarde. Om de resultaten in de praktijk te kunnen toepassen is het van belang de randvoorwaarden voor toepassing te kennen en te kunnen duiden. Dit artikel gaat nader in op de beperking en randvoorwaarden voor de toepassing van het Wells-Rileymodel bij het berekenen van infectierisico [7,8].

Transmissie via aerosolen

Ondanks de literatuur waaruit blijkt dat RNA van SARS-CoV-2 in de lucht is aangetroffen en er ook zelfs infectieus virus is vastgesteld, is niet aangetoond dat deze transmissieroute daadwerkelijk en significant bijdraagt aan besmettingen [9-13]. In binnenruimtes lijkt onder specifieke omstandigheden de transmissieroute via aerosolen op een afstand groter dan 1,5 m te kunnen bijdragen aan besmettingen. Deze specifieke omstandigheden zijn vermoedelijk: onvoldoende verse lucht die aan de betreffende ruimte wordt toegevoerd in combinatie met een hoge bronsterkte en een lange blootstellingstijd [12,13]. In termen van de kans op een infectie gaat het feitelijk om het afvoeren van besmette lucht.

Quantavariabele slechts voor één situatie

Uit analyses van het Wells-Rileymodel blijken er een aantal belangrijke uitgangspunten te zijn waarmee rekening gehouden moet worden bij de toepassing van dit model bij een respiratoir virus [2,14-17]. Een belangrijke variabele in het Wells-Rileymodel

is de quanta. De quantavariabele is echter geen eenduidige grootte maar een samenstel van verschillende invloedsfactoren. In de formule staat de quantavariabele voor de hoeveelheid virusdeeltjes die door één besmet individu in die ruimte per tijdseenheid geproduceerd wordt, en is deze maat geschaald met de besmettelijkheid van een virusdeeltje. Wells nam aan dat niet alle geïnhalerde en geïnfecteerde druppeltjes tot een infectie leiden en definieerde één quantum als het aantal geïnfecteerde druppeltjes (kernen) dat nodig is om 63 procent ($1-e^{-1}$) van de vatbare populatie te infecteren [1,18]. Deze hoeveelheid quanta kan echter niet rechtstreeks worden gemeten, maar moet worden geschat op basis van een case waarbij de attack rate van het virus tijdens de uitbraak wordt vervangen door P_i en waarbij tevens de andere variabelen in de formule zoals ventilatievoud, aantal besmette personen, uitademvolume, ademfrequentie en blootstellingstijd bekend zijn. Doordat de quanta-variabele is gekoppeld aan de omgevingsfactoren van de case waarin alle factoren die de infectiekans beïnvloeden impliciet zijn opgenomen, is het in feite een all-factor waarin juist de omgevingsfactoren per case kunnen verschillen.

Veelal wordt deze quantavariabele berekend op basis van een epidemiologische casestudie (retrospectief) waarin in ieder geval de bron en de contacten zijn geïncubeerd [2]. De quantavariabele omvat een groot aantal omgevingsfactoren. Factoren die in deze variabele impliciet zijn opgenomen zijn onder meer de luchtvochtigheid, temperatuur, seizoensgebonden effecten, luchtstroming, alle transmissieroutes, leeftijdsverdeling, lichamelijke conditie, variatie in virusconcentraties in de neus en keel van geïnfecteerden en erfelijke aanleg.

Het is bekend dat de variatie in virusconcentraties in de neus en keel van geïnfecteerden zeer sterk kan variëren van 10^2 tot 10^{11} virusdeeltjes per ml [19]. Dit zal een grote variatie geven in mogelijke aantallen virusdeeltjes in aerosolen. Het maakt hierbij ook een groot verschil of men gewoon ademt,

praat, kucht, niest, schreeuwt of luidkeels zingt. Tevens wordt de inschatting van de hoeveelheid quanta gedaan op basis van de werkelijke aantallen besmettingen in relatie tot de attack rate (aantal nieuwe besmettingen gedeeld door aantal personen binnen de populatie die een kans hebben om besmet te raken) van de aanwezige personen. Het aantal besmette personen betreft in vrijwel alle gevallen alleen de symptomatische cases terwijl bekend is dat bij SARS-CoV-2 een aanzienlijk deel, circa 30 procent, van de besmette personen asymptomatisch is [20]. Bij de bepaling van de hoeveelheid quanta worden alle mogelijke besmettingsroutes meegeteld en is niet te onderscheiden welk aandeel de aerogene route heeft. Deze totale hoeveelheid quanta wordt vervolgens gebruikt in het Wells-Rileymodel, waardoor alle besmettingen worden toegewezen aan de aerogene route. Dit geeft daarmee een vertekend beeld, zeker voor COVID-19, waarvoor nu algemeen wordt aangenomen dat de aerogene route een gering aandeel heeft.

Dit betekent dat de berekende hoeveelheid quanta bij een casestudie (retrospectief met daarin impliciet een groot aantal casespecifieke omgevingsfactoren) niet zondermeer mag worden gebruikt in een totaal andere situatie, sterker nog, dit kan een volledig foutief beeld geven. Ook voor infectieziekten waarvan is aangetoond dat deze zich aerogeen verspreiden, zoals tuberculose, kan de hoeveelheid quanta per situatie fors verschillen, waardoor grote fouten worden gemaakt als een willekeurige uitbraak wordt geprojecteerd op een andere situatie [21].

De hoeveelheid quanta kan ook prospectief worden bepaald op basis van de ingeschatte hoeveelheid virus in speeksel, conversiefactor (hoeveelheid quanta per RNA-kopieën), ademhalingsvolume en het totale volume van de geëmitteerde druppeltjes. Gezien de grote variatie in virusconcentratie in speeksel (10^2 - 10^{11} virusdeeltjes per ml, mediaan van 3×10^7 en een 95 percentiel van 6×10^{10}) is het hierbij de vraag wat een realistische waarde is voor de bronsterkte in de specifieke situatie die

beschouwd wordt [19]. Dit geldt zeker voor de zorgsector, waar bij cohortverpleging mogelijk meerdere indexcases (besmette personen) aanwezig zijn. Dit kan echter ook in andere omgevingen (bijvoorbeeld kantooromgeving) aan de orde zijn.

Er wordt verondersteld dat de lucht in een ruimte ideaal gemengd is

Een andere beperking van het Wells-Rileymodel is dat er wordt uitgegaan van ideale menging van de lucht in de ruimte. Dit is bij relatief lage ventilatiehoeveelheden veelal niet het geval [22]. Hierdoor zal de concentratie dicht bij de bron hoger zijn (en dus worden onderschat) en de concentratie verder bij de bron vandaan lager zijn (en dus worden overschat). Juist in situaties met een lage ventilatie, waar de kans op een besmetting via de lucht het hoogst wordt geschat, is het Wells-Rileymodel het minst geschikt. Significante lokale effecten, zoals een zogeheten verlengde pluim, worden niet in het model meegenomen. De verlengde pluim ontstaat als de uitgeademde ademwolk door de luchtstroming een grotere afstand aflegt en de concentratie virusdeeltjes in de ademwolk slechts in beperkte mate afneemt [8].

De vaak aangehaalde casestudie van een COVID-19-uitbraak in een restaurant is een voorbeeld van een situatie waarbij wordt uitgegaan van een ideaal gemengde ruimte [23]. In de modellering is de 431 m³ grote ruimte in twee delen opgesplitst. Op basis van het kleinere deelvolumen van 45 m³ van een specifieke hoek van het restaurant waar de besmettelijke persoon aanwezig was, zijn achteraf schattingen gemaakt voor de hoeveelheid quanta [3]. Van zuivere aerogene verspreiding lijkt hier geen sprake te zijn omdat alleen in directe omgeving van de mogelijke indexcase besmettingen waren (niet verder in restaurant). Ook zijn andere routes hier niet uitgesloten.

De concentratieopbouw in een ruimte bij binnenkomst van een besmet persoon naar een stabiele eindconcentratie vindt, zeker in volumineuze ruimten, langzaam plaats. Deze periode kan oplopen tot een ordegrrootte van uren.

Daarom is het van belang om de virusconcentratie in de ruimte tijdsafhankelijk te berekenen. Dit is met name belangrijk indien de blootstellingsduur vergelijkbaar is met de ventilatietijdsconstante (ordegrrootte 30 minuten), anders leidt dit tot forse overschattingen van de besmettingskans. Daarnaast is het van belang om met name in grotere ruimtes en bij lange verblijfstijden ook het effect van virusinactivatie en depositie in de modellen te betrekken.

Hoe het Wells-Rileymodel wél te gebruiken is

In een fase van bewustwording en kennisdelen, waarbij niet veel bekend is over de transmissie, dosisrespons en infectieuze load van het virus, kan het Wells-Rileymodel gebruikt worden om voor één case scenario's met andere ventilatiehoeveelheden door te rekenen. Hiermee kan een globaal beeld worden verkregen van het effect van een maatregel ten opzichte van een referentiesituatie (zonder deze maatregel), op de kans van een besmetting. Hierbij wordt ervan uitgegaan dat de transmissieroute volledig aerogeen is en kunnen er bij variërende condities bekeken worden: ventilatiehoeveelheid, ruimtegrootte, bronsterkte, ademhalingsdebiet en verblijfsduur. Op deze manier kan het Wells-Rileymodel nuttig zijn voor het vergelijken van scenario's zonder het doen van absolute uitspraken over het infectierisico.

Quantitative microbial risk assessment

Een quantitative microbial risk assessment (QMRA) lijkt een veel betere methodiek om een inschatting te maken van de kans op besmettingen. QMRA is het proces waarbij het risico van blootstelling aan micro-organismen wordt geschat. Deze aanpak omvat karakterisering van de relevante eigenschappen van een ziekteverwekker, het schatten van de blootstelling via een specifieke transmissieroute, en als er een dosis-responsmodel voor de pathogeen beschikbaar is het schatten van het infectierisico [24]. Veelal worden hierbij Monte Carlosimulaties (willekeurige trekkingen van getallen uit de verdelingen die variabelen beschrijven) toegepast. Bij een Monte-Carlosimulatie wordt een simulatie/berekening

niet één keer maar vele malen uitgevoerd met steeds een andere startconditie. Het resultaat hiervan is een verdelingsfunctie (bandbreedte) die het hele gebied van mogelijke uitkomsten weergeeft. Bij een QMRA worden alle stappen (gevaaridentificatie, schatten van blootstelling, gevaar- en risicokarakterisering) expliciet beschouwd en aangegeven, dit in tegenstelling tot de quantavariabele zoals gebruikt bij het Wells-Rileymodel. Een risicoschatting volgt een trapsgewijze aanpak. Allereerst worden alle stappen van een risicoschatting doorlopen met reeds voorhanden zijnde gegevens en kennis (onder meer sterkte van de bron, transmissieroutes, variabelen die invloed hebben op de transmissieroute, effecten van luchtvochtigheid, temperatuur, seizoen op het specifieke virus, vatbaarheid van de ontvanger en mate van inhalatie). Dit leidt meestal tot een eerste ruwe kwantitatieve risicoschatting. Dit geeft inzicht in de probleemstelling en de benodigde gegevens. Daaropvolgende herhalingen van de risicoschatting maken meestal gebruik van meer (nieuwe) gegevens [25]. Voor een QMRA zijn dus wel meer pathogeenspecifieke data nodig. Op dit moment zijn veel van de benodigde data voor COVID-19 beschikbaar, in elk geval om tot een blootstellingsschatting te komen [19]. Ook zijn er eerste benaderingen te vinden in de literatuur voor de dosis-responsrelatie, waarmee dus reeds risicoschattingen gedaan kunnen worden [26]. Meer SARS-CoV-2-specifieke data zullen hoogstwaarschijnlijk beschikbaar komen, waarmee QMRA steeds betrouwbaarder zal worden. Hierbij valt bijvoorbeeld te denken aan specifieke data over de besmettelijkheid van verschillende SARS-CoV-2-varianten.

Conclusie

Het Wells-Rileymodel wordt regelmatig gebruikt voor het berekenen van de kans op een individuele besmetting. Dit model hanteert een afhankelijkheid van de kans op een besmetting van de toegevoerde luchthoeveelheid. Hierbij wordt ervan uitgegaan dat besmettingen in belangrijke mate plaatsvinden via aerogene transmissie. Op basis van de huidige

inzichten, voor SARS-CoV-2 lijkt dat niet correct. De resultaten van het Wells-Rileymodel zijn daardoor onbetrouwbaar.

De quantavariabele in het Wells-Rileymodel omvat een groot aantal aspecten die niet expliciet worden weergegeven en per situatie sterk kunnen verschillen. Hierdoor is het niet verantwoord om de hoeveelheid quanta uit een specifieke case in een andere situatie toe te passen. QMRA daarentegen, is gebaseerd op schatting van de blootstelling en op een dosisresponsrelatie en is daarmee generieker.

Het Wells-Rileymodel kan in een fase van bewustwording en kennisdelen, waarbij ook weinig bekend is over een virus, nuttig zijn wanneer alleen uitbraakdata beschikbaar zijn, maar weinig bekend is over de virusuitscheiding en dosis-responsrelatie. Daarnaast kan het model ook worden ingezet voor het vergelijken van scenario's zonder het doen van absolute uitspraken over infectierisico.

Om met meer inzicht in de mechanismen de kans op een besmetting in te schatten lijkt een quantitative microbial risk assessment (QMRA) een betere methode. Bij toepassing van een QMRA zullen, naarmate meer gegevens beschikbaar zijn over het virus en de besmettingsroute, de resultaten betrouwbaarder worden.

Referenties

1. Wells WF. Airborne Contagion and Air Hygiene. Cambridge MA, Cambridge Univ Press. 1955:117-22.
2. Sze To GN, Chao CYH. Review and comparison between the Wells-Riley and dose-response approaches to risk assessment of infectious respiratory diseases. *Indoor Air*. 2010;20:2-16. doi:10.1111/j.1600-0668.2009.00621.x
3. Buonanno G, Morawska L, Stabile L. Quantitative Assessment of the Risk of Airborne Transmission of Sars-CoV-2. medRxiv. 2020.
4. Zemouri C, Awad SF, Volgenant CMC, Crielaard W, Laheij AMGA, de Soet JJ. Modeling of the Transmission of Coronaviruses, Measles Virus, Influenza Virus, Mycobacterium tuberculosis, and Legionella pneumophila in Dental Clinics. *J Dent Res*. 2020;99:1192-8. doi:10.1177/0022034520940288.

5. Escombe AR, Oeser CC., Gilman RH, et al. Natural ventilation for the prevention of airborne contagion. *PLoS Med.* 2007;4:309-17. doi:10.1371/journal.pmed.0040068.
6. Fennelly K, Nardell E. TAirborne Contagion and Air Hygiene. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1998;19:754-9. doi:10.1086/647719
7. Buonanno G, Stabile L, Morawska L. Estimation of airborne viral emission: quanta emission rate of SARS-CoV-2 for infection risk assessment. medRxiv. 2020:2020.04.12.20062828. doi:10.1101/2020.04.12.20062828
8. Jacobs P, Borsboom W. 2020 R11031 Ventilatie in Gebouwen En de Invloed Op de Verspreiding van COVID-19. Delft, The Netherlands; 2020.
9. Lednicky JA, Lauzardo M, Hugh Fan Z, et al. Viable SARS-CoV-2 in the air of a hospital room with COVID-19 patients. *Int J Infect Dis.* 2020;1-20. doi:10.1016/j.ijid.2020.09.025
10. Santarpia JL, Herrera VL, Rivera DN, et al. The Infectious Nature of Patient-Generated SARS-CoV-2 Aerosol. 2020. doi:10.1101/2020.07.13.20041632
11. Fennelly KP. Particle sizes of infectious aerosols: implications for infection control. *Lancet Respir Med.* 2020;8:914-24. doi:10.1016/S2213-2600(20)30323-4
12. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). How COVID-19 Spreads COVID-19 spreads, update 5 oct. *Centers Dis Control Prev.* 2020;Updated(Oct. 5, 2020).
13. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Scientific Brief SARS-CoV-2 and Potential Airborne Transmission. *Centers Dis Control Prev.* 2020;Update(Oct. 5, 2020).
14. Noakes CJ, Sleight PA. Applying the Wells-Riley equation to the risk of airborne infection in hospital environments: The importance of stochastic and proximity effects. *Indoor Air.* 2008;(August):17-22.
15. Stephens B. Wells-Riley & HVAC Filtration for Infectious Airborne Aerosols Final Report. Illinois; 2012.
16. Fisk WJ. Commentary on Predictive Models of Control Strategies Involved in Containing Indoor Airborne Infections. *Publ Indoor Air.* 2008;18:72-3, 2008. 2008;18(1):72-73.
17. Issarow CM, Mulder N, Wood R. Modelling the risk of airborne infectious disease using exhaled air. *J Theor Biol.* 2015;372:100-6. doi:10.1016/j.jtbi.2015.02.010
18. Noakes CJ, Andrew Sleight P. Mathematical models for assessing the role of airflow on the risk of airborne infection in hospital wards. *J R Soc Interface.* 2009;6(SUPPL. 6). doi:10.1098/rsif.2009.0305.focus
19. Schijven JF, Vermeulen LC, Swart A, Meijer A, Duizer E, de Roda Husman AM. Quantitative microbial risk assessment for airborne transmission of SARS-CoV-2 via breathing, speaking, singing, coughing and sneezing. *Environ Health Perspect.* 2021. doi:DOI 10.1289/EHP7886.
20. Johansson MA, Quandelacy TM, Kada S, Prasad PV, Steele M, Brooks JT. SARS-CoV-2 Transmission From People Without COVID-19 Symptoms. 2021:1-8. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.35057
21. Beggs CB, Noakes CJ, Sleight PA, Fletcher LA, Siddiqi K. The transmission of tuberculosis in confined spaces: an analytical review of alternative epidemiological models. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2003;7:1015-26.
22. Mundt E, Mathisen HM, Nielsen PV, Moser A. REVHA GUIDEBOOK NO 2, Ventilation Effectiveness. 2004.
23. Li Y, Ph D, Qian H, et al. Aerosol transmission of SARS-CoV-2 Evidence for probable aerosol transmission of SARS-CoV-2 in a poorly ventilated restaurant. 2020:1-19. doi:https://doi.org/10.1101/2020.04.16.20067728.
24. Haas CN, Rose JB, Gerba CP. Quantitative Microbial Risk Assessment, 2nd Edition. John Wiley & Sons, Inc.; 2014.
25. Teunis P, Schijven JF. Generic Guidance to Quantitative Microbial Risk Assessment for Food and Water. Bilthoven; 2018.
26. Haas CN. Action levels for SARS-CoV-2 in air: preliminary approach. 2020. doi:10.31219/osf.io/erntm

Inzicht in bestrijding van resistentiemechanismen bij faagtherapie

Deel 4: Tegenaanval van de faag

Julia Egido Egido, Pieter Jan Haas, Ana Rita Costa, Annabel Niessen

Feuilleton in vijf delen

Dit feuilleton bespreekt in vijf delen de huidige kennis van bacteriofaagresistentie, de genetische oorzaak die daarvoor verantwoordelijk is en de manier waarop fagen de tegenaanval inzetten. De eerste drie delen zijn verschenen in NTMM van september en december 2020. Nu volgen hier het vierde hoofdstuk, waarin aandacht wordt besteed aan de tegenaanval van de faag, en het vijfde, waarin op het gehele feuilleton wordt teruggeblikt.

De tegenaanval van de faag

Hoewel bacteriën over een zeer gevarieerd arsenaal aan resistentiemechanismen beschikken, lopen fagen niet achter als het gaat om het ontwikkelen van tegenstrategieën. Op dezelfde manier waarop bacteriële verdedigingsmechanismen op elke stap van de infectiecyclus kunnen ingrijpen, krijgt elke verdedigingslinie te maken met een tegenaanval van de faag. Fagen en bacteriën zijn op deze manier verwickeld in een continue wapenwedloop [1].

Vermijden van adsorptie

Als reactie op variaties in bacteriële oppervlaktereceptoren kunnen fagen hun tropisme veranderen door mutaties in hun receptorbindende eiwitten. Genen die coderen voor deze receptorbindende eiwitten of hieraan gerelateerde eiwitten, zijn in staat om zeer frequent te muteren door de activiteit van diversity-generating retroelements (DGR's) [2]. Deze DGR's zijn regio's die worden onderworpen aan gerichte mutatie door middel van de uitwisseling van twee iets van elkaar verschillende stukken DNA door een foutgevoelige reversetranscriptase [3]. Dit type gerichte mutagenese is template-afhankelijk en beïnvloedt

bepaalde adeninespecifieke plaatsen, terwijl een geconserveerde sequentie wordt behouden om de stabiliteit te waarborgen. Dit mechanisme is bij verschillende soorten fagen beschreven, met name in gematigde fagen. Dit proces werd als eerste beschreven in relatie tot een switch in specificiteit van het voor het tropisme bepalende eiwit in fagen tegen *Bordetella spp.* Sindsdien zijn diverse fagen geïdentificeerd die baat hebben bij dit systeem [4]. Hoewel het hierbij meestal gaat om gematigde fagen, die niet aantrekkelijk zijn voor faagtherapie, zijn hun interacties met het microbiom van de mens de moeite waard om bestudeerd te worden.

Zoals beschreven kan receptorbinding ook worden geblokkeerd door het creëren van een fysieke barrière zoals een kapsel of een laag extracellulaire polymeren. Sommige fagen zijn in staat tot binding aan deze polymeren [5]. Daarnaast kunnen veel fagen de extracellulaire matrix afbreken door middel van hydrolasen en lysasen, die de polymeren afbreken en de viscositeit van de matrix verminderen [6]. Deze enzymatische activiteit kan zich voordoen bij eiwitten die deel uit maken van de staart. In andere gevallen komen dergelijke enzymen vrij bij lysis van een geïnfecteerde bacterie.

Universitair Medisch Centrum Utrecht, Utrecht, afdeling Medische Microbiologie, J. Egido Egido, promovendus, P.-J. Haas, arts-microbioloog. TU Delft, afdeling Bionanoscience, A.R. Costa, post-doc. Correspondentieadres: P.J.A.Haas@umcutrecht.nl. Oorspronkelijke titel van dit artikel: Understanding and overcoming resistance mechanisms in bacteriophage therapy. Vertaling: Annabel Niessen, arts-onderzoeker.

Dit mechanisme kan ook bijdragen aan de virulentie van bacteriën door aanwezigheid van een profaag. Door profagen gecodeerde hyaluronidasen kunnen namelijk ook menselijk hyaluronzuur in bindweefsel afbreken waarmee diffusie van bacteriële toxines wordt gefaciliteerd [7].

DNA-degradatie: restrictiemodificatie

De meest directe manier waarop R-M-systemen door fagen worden ontweken, is door mutatie van restrictiesequenties. Dit fenomeen wordt palindroomvermijding genoemd en is frequent beschreven in bacteriën [8]. Sommige restrictie-enzymen (REasen) moeten twee sequenties herkennen binnen een vaste afstand en in een specifieke oriëntatie ten opzichte van elkaar [9]. Veranderingen in oriëntatie en afstand van deze twee sequenties zijn in dat geval genoeg om restrictie te vermijden.

Het is ook mogelijk dat de restrictiesequenties aanwezig zijn maar onbereikbaar zijn gemaakt voor de REasen. Dit kan bijvoorbeeld door de activiteit van de DarA- en DarB-eiwitten van faag P1. Deze eiwitten worden tijdens infectie van de gastheer tegelijk geïnjecteerd met het faaggenoom en blokkeren de restrictiesequenties [10]. Hetzelfde effect wordt bereikt door eiwitten die REasen kunnen 'gijzelen' door de structuur van een DNA-helix na te bootsen, zoals Ocr van faag T7 [11]. Deze eiwitten kunnen de interactie met bacteriën nog verder beïnvloeden door te interfereren met de epigenetische regulatie van bepaalde genen, wat de groei ervan belemmert [12]. Een andere strategie is het laten methyleren van faageigen genoom door het oppikken van genen die coderen voor een MTase [13] of door MTase van de geïnfecteerde gastheer hiertoe te stimuleren [14]. Het splitsen van DNA door de REasen kan ook worden voorkomen door de sequenties aan te passen die door REasen worden herkend. Een voorbeeld hiervan is de E.coli-faag T4, deze beschikt over een modificatiemechanisme met in het genoom de gemodificeerde base hydroxymethylcytosine in plaats van cytosine. REasen, die cytosinen herkennen in hun restrictiesequenties, worden hiermee ontweken. Sommige E.coli-stammen maken echter gebruik

van type IV-restrictiesystemen die gemodificeerd DNA wel kunnen herkennen. Dit voorbeeld is illustratief voor de wapenwedloop tussen bacteriën en fagen [15]. De activiteit van deze type IV-restrictiesystemen kan gepareerd worden door glycosering van de hydroxymethylcytosine-residuen van het faaggenoom. E. coli is in staat deze tegenaanval te pareren door glucose-gemodificeerde restrictie-enzymen S en D (GmrS en GmrD) tot expressie te brengen. T4 kan deze eiwitten weer neutraliseren door het injecteren van zijn interne eiwit I (IPI) tijdens de infectie van de gastheer. IPI verstoort het GmrS-GmrD-complex en remt hiermee de restrictiefunctie. E. coli kan daar weer op inspelen door GmrS en GmrD samen als één polypeptide tot expressie te brengen waardoor IPI er niet op kan aangrijpen [16].

Adaptieve immuniteit: CRISPR-Cas

Ook CRISPR-Cassystemen kunnen op verschillende manieren door fagen worden ontweken. Ten eerste door het verkrijgen van mutaties of deleties in de PAM-sequenties of in de nabijgelegen protospacerregio's. Desondanks kan het DNA van nieuw gemuteerde fagen tijdens infectie opnieuw verwerkt worden in de CRISPR-reeks. Het gevolg is een continue cyclus van faagmutaties en uitbreiding van de bacteriële protospacercollectie. Een mogelijk efficiëntere strategie is die van anti-CRISPR-eiwitten. Deze werden voor het eerst beschreven in *Pseudomonas aeruginosa*-fagen [17] en sindsdien ook in andere fagen met een uiteenlopende specificiteit [18]. Deze systemen werken over het algemeen op twee verschillende manieren: de vorming van het crRNA-Cas-complex met het target-DNA wordt voorkomen door binding aan crRNA-Cas of door occlusie van de PAM-sequentie. Een ander mechanisme is het blokkeren van het endonucleasedomein van het Cas-eiwit zodat het faag-DNA niet geknipt kan worden.

Abortieve infectie

Fagen kunnen ook de laatste bacteriële verdedigingslinie, de abortieve infectiemechanismen, te slim af zijn. Zo kunnen toxine-

antitoxinemechanismen door fagen worden omzeild door het remmen van het protease dat het antitoxine afbreekt, of door het tot expressie brengen van een eigen analoog van het antitoxine [19-21]. Daarnaast hebben mutaties in genen die betrokken zijn bij het metabolisme van nucleïnezuren, bewezen effectief te zijn het in vermijden van toxine-antitoxine-systemen in *Lactococcus* spp [22]. Tot slot kan abortieve infectie worden verhinderd door mutaties in genen die coderen voor eiwitten die betrokken zijn bij de activatie van noodzakelijke enzymen, zoals de activator van Lit, Gol [23].

Referenties

1. Stern A, Sorek R. The phage-host arms race: shaping the evolution of microbes. *Bioessays*. 2011;33:43-51. doi:10.1002/bies.201000071.
2. Guo H, Arambula D, Ghosh P, Miller JF. Diversity-generating Retroelements in Phage and Bacterial Genomes. *Microbiol Spectr*. 2014;2. doi:10.1128/microbiolspec.MDNA3-0029-2014.
3. Paul BG, Burstein D, Castelle CJ, et al. Retroelement-guided protein diversification abounds in vast lineages of Bacteria and Archaea. *Nat Microbiol*. 2017;2:17045. doi:10.1038/nmicrobiol.2017.45.
4. Benler S, Cobián-Güemes AG, McNair K, et al. A diversity-generating retroelement encoded by a globally ubiquitous Bacteroides phage. *Microbiome*. 2018;6:191. doi:10.1186/s40168-018-0573-6.
5. Bertozzi Silva J, Storms Z, Sauvageau D. Host receptors for bacteriophage adsorption. Millard A, ed. *FEMS Microbiol Lett*. 2016;363:fnw002. doi:10.1093/femsle/fnw002.
6. Latka A, Maciejewska B, Majkowska-Skrobek G, Briers Y, Drulis-Kawa Z. Bacteriophage-encoded virion-associated enzymes to overcome the carbohydrate barriers during the infection process. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2017;101:3103-19. doi:10.1007/s00253-017-8224-6.
7. Singh SK, Bharati AP, Singh N, et al. The prophage-encoded hyaluronate lyase has broad substrate specificity and is regulated by the N-terminal domain. *J Biol Chem*. 2014;289:35225-36. doi:10.1074/jbc.M113.507673.
8. Rocha EP, Danchin A, Viari A. Evolutionary role of restriction/modification systems as revealed by comparative genome analysis. *Genome Res*. 2001;11:946-58. doi:10.1101/gr.153101.
9. Golovenko D, Manakova E, Tamulaitiene G, Grazulis S, Siksnyš V. Structural mechanisms for the 5'-CCWGG sequence recognition by the N- and C-terminal domains of EcoRII. *Nucleic Acids Res*. 2009;37:6613-24. doi:10.1093/nar/gkp699.
10. Iida S, Streiff MB, Bickle TA, Arber W. Two DNA antirestriction systems of bacteriophage P1, darA, and darB: characterization of darA- phages. *Virology*. 1987;157:156-66. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3029954>. Accessed February 17, 2019.
11. Zaviľ'gelskiĭ GB, Kotova VI. Antirestriction activity of T7 Ocr protein in monomeric and dimeric forms. *Mol Biol (Mosk)*. 48:176-84. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25842838>. Accessed February 17, 2019.
12. Melkina OE, Goryanin II, Zaviľgelsky GB. The DNA-mimic antirestriction proteins ArdA ColIIB-P9, Arn T4, and Ocr T7 as activators of H-NS-dependent gene transcription. *Microbiol Res*. 2016;192:283-91. doi:10.1016/j.micres.2016.07.008.
13. Hill C, Miller LA, Klaenhammer TR. In vivo genetic exchange of a functional domain from a type IIA methylase between lactococcal plasmid pTR2030 and a virulent bacteriophage. *J Bacteriol*. 1991;173:4363-70. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1906061>. Accessed February 17, 2019.
14. Loenen WA, Murray NE. Modification enhancement by the restriction alleviation protein (Ral) of bacteriophage lambda. *J Mol Biol*. 1986;190:11-22. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3023633>. Accessed February 17, 2019.
15. Labrie SJ, Samson JE, Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8:317-27. doi:10.1038/nrmicro2315.
16. Samson JE, Magadán AH, Sabri M, Moineau S. Revenge of the phages: defeating bacterial defences. *Nat Rev Microbiol*. 2013;11:675-87. doi:10.1038/nrmicro3096.
17. Bondy-Denomy J, Pawluk A, Maxwell KL, Davidson AR. Bacteriophage genes that inactivate the CRISPR/Cas bacterial immune system. *Nature*. 2012;493:429-32. doi:10.1038/nature11723.
18. Stanley SY, Maxwell KL. Phage-Encoded Anti-CRISPR Defenses. *Annu Rev Genet*. 2018;52:445-64. doi:10.1146/annurev-genet-120417-031321.
19. Otsuka Y, Yonesaki T. Dmd of bacteriophage T4 functions as an antitoxin against *Escherichia coli* LsoA and RnIA toxins. *Mol Microbiol*. 2012;83:669-81. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22403819>. Accessed February 20, 2019.

20. Sberro H, Leavitt A, Kiro R, et al. Discovery of Functional Toxin/Antitoxin Systems in Bacteria by Shotgun Cloning. *Mol Cell*. 2013;50:136-48. doi:10.1016/j.molcel.2013.02.002.
21. Blower TR, Evans TJ, Przybilski R, Fineran PC, Salmond GPC. Viral Evasion of a Bacterial Suicide System by RNA-Based Molecular Mimicry Enables Infectious Altruism. Casadesús J, ed. *PLoS Genet*. 2012;8:e1003023. doi:10.1371/journal.pgen.1003023.
22. Samson JE, Bélanger M, Moineau S. Effect of the abortive infection mechanism and type III toxin/antitoxin system *AbiQ* on the lytic cycle of *Lactococcus lactis* phages. *J Bacteriol*. 2013;195:3947-56. doi:10.1128/JB.00296-13.
23. Bingham R, Ekunwe SIN, Falk S, Snyder L, Kleanthous C. The Major Head Protein of Bacteriophage T4 Binds Specifically to Elongation Factor Tu. *J Biol Chem*. 2000;275:23219-26. doi:10.1074/jbc.M002546200.

Inzicht in bestrijding van resistentiemechanismen bij faagtherapie

Deel 5: Discussie en conclusie

Julia Egido Egido, Pieter Jan Haas, Ana Rita Costa, Annabel Niessen

Discussie

De opkomst van multiresistente bacteriën in de afgelopen paar decennia is een zorgwekkende ontwikkeling. De snelheid waarmee nieuwe antibiotica worden ontwikkeld, is lager dan de snelheid waarmee bacteriën resistentie ontwikkelen tegen nieuwe antimicrobiële middelen. Het is daarom noodzakelijk nieuwe spelers toe te voegen aan dit veld.

Faagtherapie biedt interessante mogelijkheden om het probleem het hoofd te bieden. Om te beginnen zijn bacteriofagen overvloedig aanwezig en zeer gevarieerd, waardoor nieuwe fagen met therapeutische potentie altijd voor handen zijn. Bovendien beschikken zij over het vermogen tot amplificatie zolang de bacterie aanwezig is. Virulente fagen doden bacteriën snel, waardoor soms al binnen enkele uren de bacteriepopulatie vermindert.

Er zijn echter enkele factoren die eventuele therapeutische toepassing van fagen compliceren. Bacteriële resistentie is misschien wel de meest belangrijke. Prokaryoten vertonen een enorme diversiteit aan strategieën om zich immuun te maken voor fagen. Maar nog belangrijker, hun genomen worden gekenmerkt door een fascinerende complexiteit en ze coderen voor elementen die voortdurend kunnen evolueren en veranderen. We moeten daarbij niet vergeten dat veel onderdelen van het bacteriële genoom een voor ons nog onbekende functie kunnen vertegenwoordigen, die mogelijk een rol spelen bij antibioticum- en faagresistentie. Desondanks mogen we de therapeutische potentie van bacteriofagen als antibacteriële therapie niet onderschatten. Fagen hebben een breed scala aan middelen om de verdedigingsbarrières van bacteriën te bestrijden.

Constance evolutie en mutaties in de genomen van zowel bacteriën als fagen leiden tot een oneindige strijd waarin elke deelnemer continu probeert de ander te slim af te zijn. Dit co-evolutiemodel kan voor de mens enkele voordelen hebben. Een daarvan is dat veranderingen in bacteriële oppervlakte-eiwitten door mutaties of faseverandering, kunnen leiden tot een verminderde virulentie [1]. Dit kan bacteriën vatbaarder maken voor het immuunsysteem van de gastheer. Bovendien kunnen genen die betrokken zijn bij antibioticumresistentie worden aangetast door het opnemen van mutaties ter vermindering van faag-infectie. Al met al zou dit kunnen resulteren in een mildere en gemakkelijker te behandelen infectie. Verschillende studies hebben inderdaad aangetoond dat gecombineerde behandeling met antibiotica en fagen efficiënter is in de eradicatie van bacteriën dan beide therapieën afzonderlijk [2-4]. Een interessant idee is om gemodificeerde fagen te gebruiken ter neutralisatie van bepaalde bacteriële genen die betrokken zijn bij de acquisitie van resistentie. Een voorbeeld hiervan is het SOS-systeem dat is betrokken bij het herstellen van DNA en dat geassocieerd is overleving en ontwikkeling

Universitair Medisch Centrum Utrecht, Utrecht, afdeling Medische Microbiologie, J. Egido Egido, promovendus, P.-J. Haas, arts-microbioloog, TU Delft, afdeling Bionanoscience, A.R. Costa, post-doc. Correspondentieadres: P.J.A.Haas@umcutrecht.nl.

Oorspronkelijke titel van dit artikel: Understanding and overcoming resistance mechanisms in bacteriophage therapy.

Vertaling: Annabel Niessen, arts-onderzoeker.

van resistentiemechanismen in stressomstandigheden [5,6].

Met behulp van genetische modificatie kunnen in vitro fagen worden gemaakt die een repressor van het SOS-systeem tot expressie kunnen brengen, *lexA3* [7]. Deze strategie vertoont synergisme met verschillende antibiotica, waarbij een hogere afdoening wordt bereikt dan met antibiotica alleen of in combinatie met een wildtypefaag.

Ook kunnen fagen worden aangezet om fluorescerende proteïne bij wijze van probe tot expressie te brengen, waardoor hun rol in bacteriën in een humane celkweek kan worden bestudeerd [8].

Een andere toepassing van gemodificeerde fagen is het incorporeren van een CRISPR/Cas-systeem in het genoom van een lysogene faag [9]. Deze strategie, die bacteriën aanvalt met hun eigen afweersysteem, maakt het mogelijk om interspacers van de CRISPR-regio zo te ontwerpen dat het systeem zich gaat richten tegen genen die betrokken zijn bij antibioticumresistentie.

Dit idee kan ook worden toegepast door bijvoorbeeld DNA, plasmiden of profagen af te breken die resistentie veroorzaken tegen andere fagen. Het gebruik van genetisch gemodificeerde fagen brengt echter wel enkele gevaren met zich mee. Zo wordt het therapeutisch gebruik van gematigde fagen bemoeilijkt door het risico op ongecontroleerde overdracht van genetisch materiaal tussen bacteriën. Implementatie van een dergelijk therapeutisch middel zal binnen de huidige regelgeving nog moeilijker worden dan toepassing van wildtypefagen.

Vergelijkbaar met het gecombineerde effect van fagen en antibiotica op het elimineren van resistente bacteriën, kan ook het immuunsysteem worden aangezet om een infectie te bestrijden door het toedienen van fagen. Statistische modellen laten zien dat zowel het aangeboren afweersysteem als fagen, individueel niet in staat zijn bacteriën volledig te elimineren [10]. De combinatie van beide biedt daarentegen wel kans van slagen.

Dergelijke modellen maken het tevens mogelijk om in te spelen op bepaalde variabelen zoals het type faag dat gebruikt wordt, de concentratie antibioticum en hoever de infectie gevorderd moet zijn voordat

faagtherapie optimaal werkzaam is. Maar dit zal moeten worden aangevuld met onderzoek van faag-bacterie-interacties in een model dat gebruikmaakt van humane cellen. Fagen kunnen, zoals is waargenomen, interacteren met en aanhechten aan humane cellen, waardoor zij zich kunnen handhaven en bacteriën kunnen infecteren en doden [11].

Desondanks vormt het immuunsysteem eerder een obstakel dan een bondgenoot als het gaat om faagtherapie. Toediening van fagen in een levend organisme stimuleert zowel de aangeboren als specifieke immunrespons. Hoewel dit geen bedreiging vormt voor de patiënt, zorgt de vorming van faagspecifieke antilichamen voor snellere klaring van fagen en verlaagt het de replicatiesnelheid. Aan de andere kant kunnen fagen ervoor zorgen dat fagocyten en andere immuuncellen beter worden aangetrokken naar de plaats van de infectie. Ook de toedieningsroute van fagen speelt hierin een rol omdat dit bepalend is voor de distributie door het lichaam. Deze factoren worden uiteengezet in een review van Krut Bekeradjian-Ding uit 2018 [12]. Een veelbelovende benadering om de slagingskans van faagtherapie te vergroten, is toediening van fagen of daarvan afgeleide producten via een vector zoals liposomen. Op deze manier wordt het werkzame bestanddeel minder blootgesteld aan immunproducten in de bloedbaan en is er een grotere kans dat het specifiek op de plaats van infectie terecht komt.

Bij het ontwerpen van op fagen gebaseerde therapiemogelijkheden, dienen ook de interacties tussen fagen onderling in beschouwing te worden genomen. Competitie tussen soorten die deel uitmaken van een faagcocktail kan nadelige effecten hebben op de efficiëntie van het product, zeker in het geval van co-infecterende fagen. Daarnaast kan in het geval van lysogene infecties, het profaag-DNA worden aangepast in de volgende generaties, waardoor bij het opnieuw toepassen van het product faagresistentie kan ontstaan. Dit in acht nemend, samen met het probleem van de humorale immunrespons, lijkt een eenmalige toediening van een faagproduct met een gecontroleerde specificiteit tegen de bacterie het meest efficiënt.

Conclusie

Al met al zijn er veel aspecten aan faagtherapie die ontrafeld zullen moeten worden om brede implementatie mogelijk te maken. De faagwereld is complex en wordt gedomineerd door de complexiteit van interacties tussen fagen van dezelfde en van verschillende soorten en hun gastheer. Om faagtherapie te laten slagen, is het noodzakelijk om faagsoorten met therapeutische potentie uitgebreid te bestuderen: hoe ze zich verhouden tot elkaar en tot hun gastheren, hoe ze zich gedragen in aanwezigheid van menselijke cellen en hoe ze mogelijk worden bedreigd door het immuunsysteem. Om dit mogelijk te maken zal de regelgeving rondom geneesmiddelen moeten worden afgestemd op ontwikkelingen in therapeutische mogelijkheden. Dit zou tevens moeten leiden tot meer investering in onderzoek naar faagtherapie, wat het voor klinici mogelijk maakt de specificaties van therapeutisch middelen per infectie af te stemmen op de eigenschappen ervan. Er zou een doorbraak moeten plaatsvinden, waarbij toediening van genetisch gemodificeerde fagen tot de klinische praktijk gaat behoren. Faagtherapie zou zo een betekenisvolle rol kunnen spelen in het oplossen van de resistentieproblematiek.

Referenties

1. León M, Bastías R. Virulence reduction in bacteriophage resistant bacteria. *Front Microbiol.* 2015;6:343. doi:10.3389/fmicb.2015.00343.
2. Chaudhry WN, Concepción-Acevedo J, Park T, Andleeb S, Bull JJ, Levin BR. Synergy and Order Effects of Antibiotics and Phages in Killing *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *PLoS One.* 2017;12:e0168615. doi:10.1371/journal.pone.0168615.
3. Oechslin F, Piccardi P, Mancini S, et al. Synergistic Interaction Between Phage Therapy and Antibiotics Clears *Pseudomonas Aeruginosa* Infection in Endocarditis and Reduces Virulence. *J Infect Dis.* 2017;215:703-12. doi:10.1093/infdis/jiw632.
4. Valério N, Oliveira C, Jesus V, et al. Effects of single and combined use of bacteriophages and antibiotics to inactivate *Escherichia coli*. *Virus Res.* 2017;240:8-17. doi:10.1016/J.VIRUSRES.2017.07.015.
5. Baharoglu Z, Mazel D. SOS, the formidable strategy of bacteria against aggressions. *FEMS Microbiol Rev.* 2014;38:1126-45. doi:10.1111/1574-6976.12077.
6. Mo CY, Manning SA, Roggiani M, et al. Systematically Altering Bacterial SOS Activity under Stress Reveals Therapeutic Strategies for Potentiating Antibiotics. *mSphere.* 2016;1. doi:10.1128/mSphere.00163-16.
7. Lu TK, Collins JJ. Engineered bacteriophage targeting gene networks as adjuvants for antibiotic therapy. *Proc Natl Acad Sci.* 2009;106:4629-34. doi:10.1073/pnas.0800442106.
8. Møller-Olsen C, Ho SFS, Shukla RD, Feher T, Sagona AP. Engineered K1F bacteriophages kill intracellular *Escherichia coli* K1 in human epithelial cells. *Sci Rep.* 2018;8:17559. doi:10.1038/s41598-018-35859-6.
9. Yosef I, Manor M, Kiro R, Qimron U. Temperate and lytic bacteriophages programmed to sensitize and kill antibiotic-resistant bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112:7267-72. doi:10.1073/pnas.1500107112.
10. Leung CY (Joey), Weitz JS. Modeling the synergistic elimination of bacteria by phage and the innate immune system. *J Theor Biol.* 2017;429:241-52. doi:10.1016/J.JTBI.2017.06.037.
11. Shan J, Ramachandran A, Thanki AM, Vukusic FBI, Barylski J, Clokie MRJ. Bacteriophages are more virulent to bacteria with human cells than they are in bacterial culture; insights from HT-29 cells. *Sci Rep.* 2018;8:5091. doi:10.1038/s41598-018-23418-y.
12. Krut O, Bekeredjian-Ding I. Contribution of the Immune Response to Phage Therapy. *J Immunol.* 2018;200:3037-44. doi:10.4049/jimmunol.1701745.

Sociale netwerken en preventiegedrag

Lisanne Steijvers

Titel van het onderzoek

De betekenis van sociale netwerken en gedrag rond het voorkómen van infectieziekten; een cross-sectioneel onderzoek onder mensen van 40 jaar en ouder

Doel van het onderzoek

Sociale netwerken (onze fysieke en online sociale relaties) spelen een belangrijke rol in onze leefstijl en gezondheid. Het maakt bijvoorbeeld uit hoeveel mensen je netwerk bevat, hoeveel steun je ontvangt, welke typen relaties je hebt. In deze studie hebben we verbanden onderzocht tussen kenmerken van een sociaal netwerk en het toepassen van gedrag dat beschermt tegen het krijgen van een luchtweginfectie (preventieve maatregelen).

Methoden

Gegevens over sociale netwerken en gezondheid uit de vragenlijst van het SaNAE-onderzoek (2019, vlak voor de coronapandemie) werden geanalyseerd (www.sanae-study.nl). De vragenlijst is afgenomen onder Limburgers die 40 jaar of ouder waren en die zelfstandig wonen. De uitkomstvariabele was het aantal maatregelen (nul tot vier) dat werd toegepast in de afgelopen twee maanden. De associaties werden onderzocht met multivariate ordinale regressieanalyse.

Resultaten

In totaal hebben 5128 personen (gemiddelde leeftijd 63 jaar, 54 procent man) de vragenlijst volledig ingevuld. Van de deelnemers gaf 94 procent aan regelmatig handen te wassen met water en zeep, 55 procent gaf aan enkel papieren (versus stoffen) zakdoeken te gebruiken, 19 procent raakte het gezicht zo min mogelijk aan en 39 procent hield afstand van personen met symptomen van een luchtweginfectie. Het gemiddelde sociale netwerk bestond uit 11 personen, van wie 46 procent

familieleden waren en 27 procent vrienden. Met 6 van deze 11 personen was er enkel fysiek contact en met twee personen zowel fysiek als online. De deelnemers ontvingen gemiddeld van vier personen informatiele steun, van zes personen emotionele steun en van twee personen praktische steun.

Netwerkenmerken die onafhankelijk geassocieerd waren met meer preventieve maatregelen waren:

- > het hebben van een groter aandeel vrienden binnen het netwerk (binnen de netwerktheorie ook wel gekarakteriseerd als 'sterke relaties');
- > een groter aandeel netwerkleden die verder weg wonen;
- > meer netwerkleden met wie er enkel online contact was (en geen fysiek contact);
- > meer netwerkleden van wie men informatiele steun ontvangt (gekaracteriseerd als 'zwakke relaties').

Ook waren er enkele kenmerken geassocieerd met het toepassen van minder maatregelen, namelijk:

- > lid zijn van een vereniging;
- > een groter aandeel netwerkleden met dezelfde leeftijd.

Conclusie

Vrienden ('sterke relaties') lijken een belangrijke rol te spelen in het toepassen van infectiepreventiegedrag. Ditzelfde geldt voor de 'zwakke relaties'

GGD Zuid Limburg, afdeling Seksuele Gezondheid, Infectieziekten en Milieu, L.C.J. Steijvers, junior onderzoeker.
Correspondentieadres:
lisanne.steijvers@ggdzl.nl,
nicole.dukers@ggdzl.nl

(netwerkleiden die verder weg wonen, die informatiele steun geven of met wie er enkel online contact is). Net als eerdere studies hebben aangetoond voor leefstijl, zoals roken en bewegen, lijkt ook bij infectiepreventiegedrag het sociale netwerk een belangrijke rol te spelen, waardoor het mogelijk ook ingezet kan worden in preventie van luchtweginfecties.

In verder onderzoek wordt uitgezocht op welke wijze deze inzichten gebruikt kunnen worden in preventieprogramma's om gezond gedrag, zoals infectiepreventiegedrag, te bevorderen bij volwassenen en ouderen.

Dit onderzoek is tot stand gekomen dank zij een samenwerking tussen GGD Zuid-Limburg, GGD

Limburg Noord, Universiteit Maastricht (afdelingen Gezondheidsbevordering, Sociale geneeskunde en Medische Microbiologie), Vrije Universiteit Amsterdam, als onderdeel van de Academische Werkplaats Publieke Gezondheid en met steun van ZonMW.

Referentie

Steijvers LCJ, Brinkhues S, Hoebe CJPA, et al. Social networks and infectious diseases prevention behavior: A cross-sectional study in people aged 40 years and older. PLOS ONE 16(5): e0251862. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0251862>

PROMOTIES

24 maart 2021 - G.S. Dijksteel

Potential novel antimicrobial therapies for burn wounds: peptides and cold plasma

Promotoren: prof. dr. E. Middelkoop en prof. dr. M.W. Ulrich

Copromotor: dr. B.K.H.L. Boekema
VU Amsterdam, afd. Plastische Chirurgie.
Vereniging Samenwerkende
Brandwondencentra Nederland

14 april 2021 - K.R. Lattwein

Sonobactericide

Promotoren: prof. dr. ir. N. de Jong en
prof. dr. ir. A.F.W. van der Steen

Copromotoren: dr. K. Kooiman en
dr. W.J.B. van Wamel
Erasmus MC Rotterdam, afd. Cardiologie

12 mei 2021 - M. Zhao

Searching for Modulators of CD8+ T Cell Exhaustion

Promotor: prof. dr. P.D. Katsikis
Copromotor: dr. Y.M. Müller
Erasmus MC Rotterdam, afd. Immunologie

18 mei 2021 - M. Janssen

Development, specificity and local recruitment of lymphocytes contributing to central nervous system demyelinating disease

Promotoren: prof. dr. P.D. Katsikis en
prof. dr. P.A.E. Sillevs Smitt
Copromotor: dr. M.M. van Luijn
Erasmus MC Rotterdam, afd. Immunologie en
afd. Neurologie

19 mei 2021 - A. Signorazzi

In vitro approaches for the evaluation of human vaccines

Promotor: prof. dr. A.L.W. Huckriede
Copromotor: dr. I.A. Rodenhuis-Zybert
UMC Groningen, afd. Medische Microbiologie en
Infectiepreventie,
Vakgroep: Vaccinologie en Experimentele
Virologie

2 juni 2021 - S. Popping

The elimination of disease and burden of disease

Promotoren: prof. dr. C.A.B. Bouchert en
prof. dr. A. Verbon
Copromotor: dr. D.A.M.C. van de Vijver
Erasmus MC Rotterdam, afd. Viroscience en
afd. Medische Microbiologie & Infectieziekten

9 juni 2021 - E.D. Pieterman

Improving tuberculosis treatment

Promotor: prof. dr. A. Verbon
Copromotoren: dr. H.A. Bax en
dr. J.E.M. de Steenwinkel
Erasmus MC Rotterdam, afd. Medische
Microbiologie & Infectieziekten

15 juni 2021 - L. Rijvers

Antibody-independent functions of B cells in multiple sclerosis

Promotoren: prof. dr. P.D. Katsikis en
prof. dr. P.A.E. Sillevs Smitt
Copromotor: dr. M.M. van Luijn
Erasmus MC Rotterdam, afd. Immunologie en
afd. Neurologie

Uitgegeven door
de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie
juni 2021

www.nvmm.nl