

NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR  
**MEDISCHE MICROBIOLOGIE**



**Thema Serologie van infectieziekten**

Humorale en cellulaire afweer tegen SARS-CoV-2  
Arbovirusserologie in een veranderende wereld  
Serologie bij enterovirusgerelateerde ziekte  
Serology Education

**Ingezonden**

Influenzaseizoen 2021/2022 in Nederland  
Preventieve COVID-19-screening

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](mailto:secretariaat@nvmm.nl)  
Internet: [www.nvmm.nl](http://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. Simone Moorlag, dr. Janette  
C. Rahamat-Langendoen,  
Gro L. Vlaspoolder

Redactiesecretariaat  
Alphatekst, Marina Kapteyn  
Baronie 42  
2404 XG Alphen aan den Rijn  
tel. 06 12076835  
[marina@alphatekst.nl](mailto:marina@alphatekst.nl)

Coverbeeld: Hans den Boer

*Frequentie 4 x per jaar. Alle rechten voorbehouden.  
Op deze uitgave is het redactiereglement van  
toepassing.  
Niets uit deze uitgave mag worden veelevoudig,  
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

Serologische diagnostiek 3  
*Jean-Luc Murk, Bert Mulder*

### Transmissieroute

De last tango, pensionado's overzee! 4  
*Peter Schneeberger*

### Thema Serologie van infectieziekten

Humorale en cellulaire afweer tegen SARS-CoV-2 5  
*Marc Conrad Shamier, Daryl Geers, Marion Koopmans,  
Rory de Vries, Corine Geurts van Kessel*

Arbovirusserologie in een veranderende wereld 13  
*Louella Kasbergen, Babs Verstrepen, Corine Geurts  
van Kessel, Reina Sikkema, Marion Koopmans*

Serologie in de diagnose van enterovirusgerelateerde ziekte 22  
*Karen Couderé, Katja Wolthers, Jean-Luc Murk*

### Ingezonden

SIG-BIMM, een nieuw netwerk binnen de medische 28  
microbiologie in Nederland  
*Ellen Carbo*

Preventieve screening bij patiënten zonder bekend 30  
COVID-19-risico  
*Corianne Meijer, Alma Tostmann, Marije Stoffer, Rob Timmers,  
Lisanne Gommers, Vera du Buf, Matthew McCall, Heiman  
Wertheim, Chantal Rovers, Edmée Bowles*

Influenzaseizoen 2021/2022 in Nederland - 36  
Griep is terug na de COVID-19-pandemie  
*Ron Fouchier, Mariëtte Hooiveld, Adam Meijer, Dirk Eggink,  
Liz Jenniskens, Stijn Raven, Brenda Westerhuis, Rianne van  
Gageldonk-Lafeber, Marit de Lange, Marion Koopmans*

### Boekrecensie

'Statistiek, validatie en meetonzekerheid voor het Laboratorium' 45  
*Jean-Luc Murk*

### Thema Serologie van infectieziekten (vervolg)

Serology Education 46  
*Jean-Luc Murk, namens de stichting Serology Education*

### Promoties & oraties

47



# Serologische diagnostiek

Jean Luc Murk, gastredacteur; Bert Mulder, hoofdredacteur

Het thema van deze eerste uitgave van het *Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie* in 2023 is 'serologie van infectieziekten'. Er zijn drie artikelen aan dit thema gewijd, waarover later meer. Daarnaast bevat deze uitgave een overzichtsartikel over het bijzondere influenzaseizoen van 2021-2022. Hiermee hervat prof. dr. Ron Fouchier de traditie van influenza-overzichten na een onderbreking door de SARS-CoV-2-pandemie. Peter Schneeberger wijdt de Transmissieroute aan een overdenking over het feit dat een aantal pensionado's elkaar na hun werkzame leven weer tegenkwamen in het laboratorium van het Academisch Ziekenhuis in Suriname. Corianne Meijer en collega's schreven een bijdrage over de preventieve screening bij patiënten zonder risico op COVID-19 in het Radboudumc en hoe dit heeft bijgedragen aan het voorkómen van SARS-CoV-2-uitbraken in dit ziekenhuis. Ellen Carbo stelt de nieuwe Special Interest Group Bioinformatics In Medical Microbiology aan u voor, die als doel heeft een kennisnetwerk te vormen voor de bioinformatica binnen de medische microbiologie in Nederland.

Serologie is vanouds een van de hoekstenen van de microbiologische diagnostiek. Het blijft een actueel onderwerp vanwege nieuwe ontwikkelingen en de opkomst van nieuwe pathogenen. Helaas is er niet altijd sprake van vooruitgang, omdat fabrikanten het leven van de arts-microbioloog soms lastig maken door vertrouwde en bruikbare immunoassays van de markt te halen. Dit themanummer bevat een aantal prachtige overzichtsartikelen waarin de rol van serologie belicht wordt. Het is goed om hier kennis van

te nemen. Marc Shamier en coauteurs bespreken in hun bijdrage wat actueel bekend is over de 'correlate of protection' tegen SARS-CoV-2 en welke rol de humorale en cellulaire afweer hierin spelen. Louella Karsbergen en coauteurs gaan in op de diagnostiek naar arbovirusinfecties, inclusief nieuwe mogelijkheden en de bijbehorende pitfalls. Dit overzichtsartikel bevat veel waardevolle achtergrondinformatie en gaat ook in op de (veranderende) epidemiologie van arbovirussen. Karen Couderé en coauteurs bespreken wat de indicaties kunnen zijn om enterovirusserologie in te zetten, met de bijbehorende uitdagingen en beperkingen. Deze serologie wordt in Nederland nog nauwelijks gebruikt, waardoor er waarschijnlijk ook weinig kennis over dit onderwerp is. Jean Luc Murk maakt van dit themanummer gebruik om de aandacht te vestigen op de website [www.serology-education.com](http://www.serology-education.com). Deze website is door de gelijknamige stichting in het leven geroepen om te helpen bij de interpretatie van serologische uitslagen en om uitgebreide achtergrondinformatie te geven over infectieziektenserologie. De site is handig voor de patiëntenzorg, maar ook uitermate geschikt voor onderwijsdoeleinden. Dat is niet alleen vanwege alle informatie die er op te vinden is, maar ook vanwege de prachtige en informatieve figuren die bij de onderwerpen staan. Als aanhangsel bij het thema serologie van infectieziekten vindt u in deze *NTMM*-editie ook een boekbespreking van het boek 'Statistiek, validatie en meetonzekerheid voor het Laboratorium' van dr. J.W.A. Klaessens. Al met al is dit weer een prachtige *NTMM*-editie geworden.

# De last tango, pensionado's overzee!

Peter Schneeberger

Wat is een goed moment om terug te kijken op je werkzame leven als arts-microbioloog? Door welk onderdeel van je vak werd je het meest gegrepen? Wat ging goed, wat niet en hoe maakte je het verschil? Wat heb je aan al die ervaringen als pensionado? Dit soort gedachten komen natuurlijk alleen maar op als je de tijd hebt, zoals wij, om terug te kijken.

Na de gebruikelijke omzwervingen van een arts-medisch microbioloog hebben onze wegen, die van Peter van Keulen, Bartelt de Jongh, Jan Weel en van mij, zich niet geheel toevallig gekruist in Suriname. Vanaf 2017 tot mei 2022 heeft Ed IJzerman aan het Medische Microbiologisch en Immunologisch Laboratorium (MMI) van het Academisch Ziekenhuis Paramaribo, een opleiding en een waarnemingsgroep geformeerd, waarvan wij vieren deel uitmaakten. Het project is in mei 2022 beëindigd met de afronding van de opleiding van Terrence Mawie. Hij is bijgeschreven in het Surinaamse specialistenregister en geeft nu leiding aan het MMI. Naast de dagelijkse werkzaamheden en het opleiderschap zijn de belangrijkste doorgevoerde verbeteringen de aanstelling van een klinisch immunologe, de vervanging van het gecrashte LIS en de upgradering van serologie en moleculaire diagnostiek. Daar staat tegenover dat het niet gelukt is om de defecte autoclaaf te vervangen, een aangepast functiehuis voor de analisten te realiseren en structureel onderhoud vast te leggen. Wij hebben gedurende deze periode als vakgroep geopereerd met maandelijkse zoomoverleggen. Het werk was niet altijd eenvoudig. De lokale politiek en verhoudingen waren soms ondoordringelijk [1].

De afronding van het Surinameproject en het verzoek van de directie van de medische microbiologie van het Analytisch Diagnostisch Centrum (ADC) in Curaçao om hen wegens een tekort aan artsen-microbioloog uit de brand te helpen, maakten de gedachten over het terugkijken op het leven van een arts-microbioloog weer actueel. Wat zijn we waard?

De ervaring in Suriname heeft ons geleerd hoe complex het vakgebied kan zijn als de structuur

ontbreekt. De prioriteiten van de geoliede machine van de Nederlandse zorg zijn niet dezelfde als die voor een situatie waar sprake is van tekorten. Waar moet je beginnen? Laaghangend fruit of juist een structurele aanpak? We hebben diverse collega's die op Curaçao werkzaam zijn geweest, gevraagd naar hun ervaringen. We hebben uitgebreid gesproken met het management. De uitkomsten van deze gesprekken in combinatie met onze eerdere ervaringen hebben ons geleerd dat we moeten kiezen voor een structurele aanpak met een visie voor de langere termijn.

Op basis hiervan hebben wij afspraken gemaakt met het ADC om 18 maanden klinische medisch-microbiologische zorg voor het Curaçao Medical Center te leveren en de publieke microbiologische zorg van het land te ondersteunen. De directies van het ADC en het CMC ondersteunen de gedachte van deze meer structurele inzet. De randvoorwaarden die we met het ADC zijn overeengekomen, zijn in lijn met ons beroepsprofiel. De directie van het ADC zet daar een investeringsplan tegenover. Naast nieuwbouw, integratie van de moleculaire diagnostiek bij de MMB, aanschaf van GLIMS en een upgrade van bloed-kweekfaciliteit, heeft het ADC de financiering voor een dubbele bezetting van artsen-microbioloog toegezegd. Het RIVM heeft voor de COVID-monitoring onder andere een breed inzetbaar sequenceplatform geleverd. Het ziekenhuis zet in op een JCI-accreditatie. Inmiddels zijn we van start gegaan en hebben we de eerste stappen gezet om op de werkvloer van het laboratorium en in het ziekenhuis ons beleid uit te dragen. Hoe mooi zou het zijn als onze beroepsgroep en de NVMM ons initiatief omarmen en ondersteunen, zodat we het stokje kunnen overdragen voordat onze houdbaarheidstermijn verloopt.

Mede namens de directie van het ADC en de Nederlandse collega's, Peter M. Schneeberger (p.m.schneeberger@gmail.com).

## Referentie

1. [www.tvionline.nl/journal-article/lab-rondje-paramaribo/](http://www.tvionline.nl/journal-article/lab-rondje-paramaribo/)

# Humorale en cellulaire afweer tegen SARS-CoV-2

Marc Conrad Shamier, Daryl Geers, Marion Koopmans, Rory de Vries, Corine Geurts van Kessel

## Samenvatting

De bescherming tegen een (ernstige) infectie met SARS-CoV-2 wordt bewerkstelligd door verschillende complementaire componenten van het immuunsysteem, die worden geïnduceerd na infectie en/of vaccinatie. Antistoffen zijn relatief makkelijk te meten en correleren met bescherming tegen infectie. Antistoffen hebben echter een beperkte levensduur en nieuwe varianten ontsnappen gemakkelijker aan antistofneutralisatie. Deze ontsnapping aan de immuuniteit verklaart waarom doorbraak- en herinfecties veel voorkomen. Daarentegen houdt bescherming tegen ernstige ziekte langer stand, wat waarschijnlijk verklaard wordt door andere componenten van het immuunsysteem. Naast neutralisatie hebben antistoffen ook andere effectorfuncties die kunnen bijdragen aan klaring van het virus, zoals stimulatie van cytotoxiciteit en fagocytose. De T-celimmuuniteit toont een sterke samenhang met de ernst en duur van COVID-19 en is bovendien stabiel en robuuster tegen nieuwe varianten. In dit overzichtsartikel bespreken we de huidige kennis van de immuuniteit tegen SARS-CoV-2, met aandacht voor de verschillende componenten van het immuunsysteem evenals de beschikbare methoden om de immuunrespons te meten.

## Summary

Protection against a (severe) infection with SARS-CoV-2 is achieved by various complementary components of the immune system, which are induced after infection and/or vaccination. Antibodies are relatively easy to measure and correlate with protection. However, antibodies have a limited lifespan and new variants have been shown to escape antibody neutralization. This immune escape explains why breakthrough infections and reinfections are common. In spite of this decay of antibodies the protection against severe disease remains stable, which is probably explained by other components of the immune system. In addition to neutralization, antibodies have other effector functions that contribute to

viral clearance, including the stimulation of cytotoxicity and phagocytosis. T-cell immunity shows a strong correlation with the severity and duration of COVID-19 and is also more stable and robust against new variants. In this review article, we discuss the current state of knowledge regarding SARS-CoV-2 immunity, focusing on the different components of the immune system as well as available methods to measure the immune response.

## Inleiding

Bijna drie jaar geleden werd de coronavirus disease-2019 (COVID-19)-uitbraak tot pandemie verklaard door de World Health Organization (WHO). De internationale inspanningen om de circulatie van het severe acute respiratory distress syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) af te remmen en daarmee de consequenties te beperken, hebben sinds een vroeg stadium twee pijlers: 1) zicht op het virus en het verminderen van transmissie, 2) het voorkomen van ernstige ziekte en overbelasting van de zorg. Binnen beide pijlers was er een belangrijke rol weggelegd voor laboratoriumdiagnostiek: enerzijds door op virologische gronden vast te stellen of er nog sprake is van een actieve infectie, anderzijds om door middel van immunologische testen uitspraken te doen over de mate van bescherming van de bevolking, na blootstelling aan het virus en na vaccinatie. De vervolgstategie leek evident: effectieve vaccins werden in rap tempo ontwikkeld en de eerste gegevens van studies na invoering van vaccinatie lieten zien dat een hoge vaccinatiegraad de circulatie van het virus zou afremmen. Spoedig bleek dat immuuniteit niet volledig was, met herinfecties en in toenemende mate door-

Erasmus Medisch Centrum, afdeling Viroscience, drs. M.C. Shamier, arts-microbioloog in opleiding, D. Geers, PhD-student, prof. dr. M.P.G. Koopmans, hoofd afdeling Viroscience, R. de Vries, assistent professor, dr. C. Geurts van Kessel, arts-microbioloog, arts-viroloog. Correspondentieadres: M.C. Shamier (m.shamier@erasmusmc.nl).

braakinfecties. Daarbij speelde ook de opkomst van varianten met mutaties op belangrijke epitopen een belangrijke rol. Waar neutraliserende antistoffen een duidelijke rol hebben in de bescherming tegen infectie, hebben T-cellen een belangrijke rol in de bescherming tegen ernstige ziekte. Wanneer er precies gesproken kan worden van een adequate immunorespons die leidt tot bescherming tegen infectie, ernstige ziekte, of transmissie, is een vraag die tot heden nog niet volledig is beantwoord. Een zogeheten 'correlate of protection' (CoP) wordt gedefinieerd als één of meer immunologische markers geïnduceerd door vaccinatie of een doorgemaakte infectie, die gecorreleerd zijn met bescherming tegen infectie en/of ziekte [1]. Het identificeren van een CoP voor COVID-19 is van groot belang voor de individuele patiëntenzorg om vast te stellen of een (kwetsbare) patiënt voldoende is beschermd, in aanmerking komt voor aanvullende vaccinatie, of geadviseerd wordt om over te gaan tot (zelf)isolatie tijdens SARS-CoV-2-circulatie en eventuele vroege behandeling. Daarnaast is er een belang voor de volksgezondheid aangezien een CoP helpt om uitspraken te doen over immuniteit op populatieniveau [2]. In dit overzichtsartikel bespreken we de huidige kennis van de humorale en cellulaire afweer tegen SARS-CoV-2 en de methodes en indicaties voor het testen van SARS-CoV-2-specifieke afweer in de dagelijkse praktijk.

## Humorale immuniteit tegen SARS-CoV-2

Het SARS-CoV-2-virus bestaat uit vier structurele eiwitten, namelijk het nucleocapside (N), membraan-(M), envelop- (E) en spike (S) -eiwit. Tot op heden correleren neutraliserende antistoffen gericht tegen het 'receptorbindende domein' (RBD) van het spike-eiwit het best met bescherming tegen infectie en ziekte [3]. Binding van deze neutraliserende antistoffen blokkeert de interactie met de angiotensineconverterend enzym 2 (ACE2)-receptor, waardoor het virus niet langer in staat is om humane cellen te infecteren [4]. Niet-neutraliserende antistoffen gericht tegen andere delen van het spike-eiwit of tegen andere virale eiwitten hebben deze eigenschap niet, maar dragen waarschijnlijk wel bij aan klaring van geïnfecteerde cellen en vrij virus [4]. Een infectie met SARS-CoV-2 resulteert in een robuuste humorale respons met detecteerbare IgM-, IgG- en IgA-antistoffen gericht tegen het S-eiwit vanaf één tot drie weken na de eerste ziektedag bij een groot deel van de patiënten [5]. Een

piek in neutraliserende antistoffen wordt gezien na drie tot vijf weken. De sterkte van deze respons is heterogeen en positief gecorreleerd met de ernst van ziekte [4,6,7].

Verschillende studies hebben aangetoond dat vaccinatie na een doorgemaakte SARS-CoV-2-infectie leidt tot een verdere stijging van antistoftiters en het aantal specifieke memory B-cellen [8,9]. Bij deze groep mensen werd weinig verdere doorstijging van antistoffen geobserveerd wanneer er een tweede vaccinoses werd aangeboden [8,9]. Bij vaccinatie van SARS-CoV-2-naïeve individuen werden neutraliserende antistoffen gedetecteerd bij ongeveer de helft van hen na een enkele dosis van een mRNA-vaccin, na de tweede dosis worden neutraliserende antistoffen gedetecteerd bij vrijwel alle gezonde volwassenen [9]. Studies met verschillende groepen immuungecompromitteerde patiënten toonden een lagere vaccinatie-respons, die sterk verschilde afhankelijk van het type immunosuppressie. In een meta-analyse was in vergelijking met immunocompetente controles de kans op seroconversie na volledige vaccinatie 39 procent voor solide orgaantransplantatie-ontvangers, 63 procent voor patiënten met hematologische maligniteiten, 75 procent voor patiënten met immuungemedieerde inflammatoire ziekten en 90 procent voor patiënten met solide tumoren [10].

Zes maanden na infectie of vaccinatie werd een significante afname van IgG-antistoffen gezien [11,12]. In de praktijk is gebleken dat deze afname van antistoffen gepaard gaat met een afname van vaccineffectiviteit. Data uit Engeland toonden een daling van de vaccineffectiviteit voor symptomatische infectie met de deltavariant van het BNT162b2-vaccin (Pfizer) van 89,7 tot 66,3 procent na 20 weken. Voor ChAdOx1-S (AstraZeneca) was dit 67,6 tot 44,3 procent. De bescherming tegen zowel ziekenhuisopname als mortaliteit bleef langer stabiel, met ruim 80 procent voor het AstraZenecavaccin en ruim 90 procent voor het Pfizervaccin na 20 weken [13]. Na boostervaccinatie werd een snelle stijging van antistoffen tegen S-eiwit geobserveerd, waarbij de mate van stijging verschilde afhankelijk van welk boostervaccin werd aangeboden. Na primaire vaccinatie met het Janssen-vaccin (Ad26.COV2.S) werden de beste resultaten gezien na heterologe boosting met een mRNA-vaccin [14].

Naast deze afname van antistoffen speelt ook virale evolutie een belangrijke rol in het risico op doorbraak-



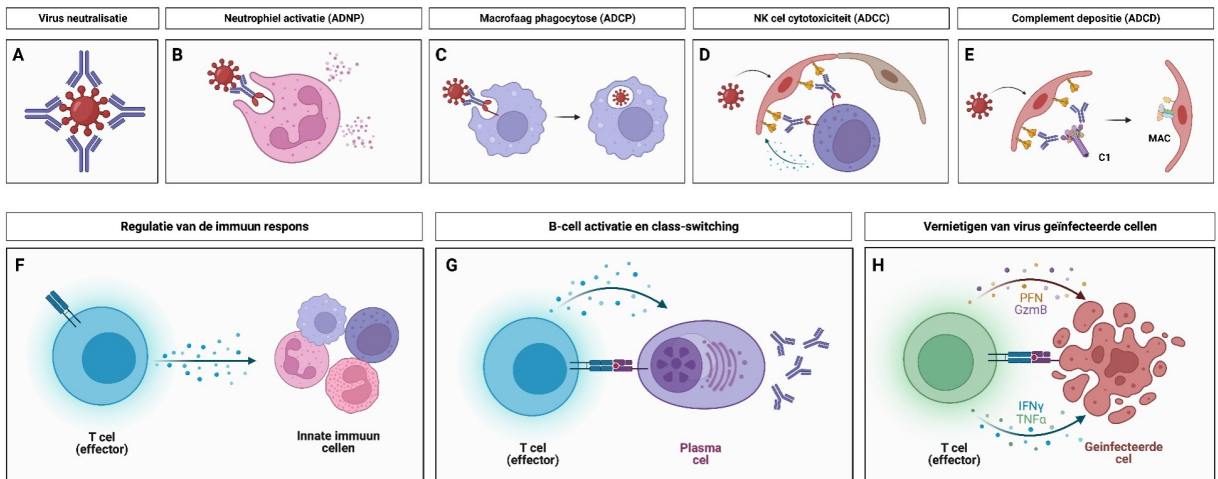
en herinfecties. De op dit moment dominante omikronsubvarianten worden gekenmerkt door meer dan 50 aminozuurmutaties ten opzichte van het originele Wuhanvirus, waarvan de meeste zich bevinden in het spike-eiwit [15]. Via neutralisatietesten werd duidelijk dat de bèta- en deltavarianten in significante mate kunnen ontsnappen aan de humorale immuniteit geïnduceerd door vaccinatie, maar dat de omikronsubvarianten hier nog beter in zijn [8, 12]. Deze ontsnapping aan de immuniteit werd ook gereflecteerd door het gebrek aan effectiviteit van het merendeel van de geregistreerde monoklonale antistoffen als behandeling bij infecties met omikronsubvarianten. Hoewel boostervaccinatie de antistofrespons tegen omikron kan stimuleren, blijft deze wel verlaagd ten opzichte van het originele Wuhanvirus en daalt de antistoftiter in een relatief korte periode [12]. Recent zijn twee bivalente vaccins – gebaseerd op het S-eiwit van het originele virus alsmede omikron BA.1 – goedgekeurd voor gebruik in Europa. Hoewel effectiviteitsdata nog niet beschikbaar zijn, geven deze

vaccins een bredere respons tegen de omikronvariant en blijft de respons tegen de originele variant behouden [16].

Hoewel immuniteit vooral systemisch wordt bestudeerd, vindt een belangrijk deel van de effectorfuncties plaats op mucosaal niveau met als hoofdcomponenten secretair IgA en tissue-resident memory T-cellen en B-cellen. Secretair IgA is in staat om virus te neutraliseren op de mucosale oppervlakte voordat infectie optreedt [17]. Nasale IgA-antistoffen tegen het S-eiwit zijn meetbaar bij een deel van de mensen met een doorgemaakte infectie, een verdere stijging wordt gezien na (intramusculaire) vaccinatie [18]. Een fase III-studie naar het intranasale BBV154-vaccin (Bharat Biotech) is afgerond, maar gepubliceerde data zijn nog niet beschikbaar.

Neutraliserende antistoffen vormen slechts een fractie van het volledige antistofrepertoire. De rol van de overige, niet-neutraliserende antistoffen blijft vaak onderbelicht. Antistoffen kunnen effectorfuncties hebben die worden gemedieerd door de Fc-regio

**Figuur 1.** Humorale en cellulaire immuunrespons tegen SARS-CoV-2.



Antilichamen kunnen verschillende functies hebben bij het bestrijden van een SARS-CoV-2-infectie, waaronder het (A) neutraliseren van viruspartikels, (B) activeren van neutrofielen, (C) opsoniseren van viruspartikels voor fagocytose by macrofagen, (D) induceren van NK-gemedieerde 'killing' van virusgeïnfecteerde cellen, (E) activeren van het complementsysteem, wat leidt tot de formatie van het 'membrane attack complex'. Naast antilichamen spelen T-cellen ook een belangrijke rol in de antivirale afweer bij SARS-CoV-2; zo zijn T-cellen belangrijk bij het (F) reguleren van de immuunrespons door T-helpercellen, (G) derigeren van de B-celrespons, wat leidt tot class-switching van antilichamen en maturatie, en (H) induceren van cytotoxische T-cellen die specifiek virusgeïnfecteerde cellen kunnen vernietigen. MAC = membrane attack complex; PFN = perforine; GzmB = Granzyme B, IFN gamma = Interferon gamma, TNF alpha = tumor necrose factor alpha.

(de staart van de antistof). Hieronder vallen antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC), antibody-dependent cellular phagocytosis (ADCP) en complement-dependent cytotoxicity (CDC). ADCC treedt op wanneer een natural killer cel bindt aan de Fc-regio van een aan de cel gebonden antistof. Dit leidt tot het vrijkomen van lytische eiwitten die de dood van geïnfecteerde cellen induceren. In een klinische studie bereikten ADCC-mediërende antistoffen een piek twee weken na de start van klachten, eerder dan de piek in neutraliserende antistoffen. De ADCC-activiteit was positief gecorreleerd met ernst van de ziekte en bleef relatief stabiel gedurende 6 tot 12 maanden [19]. Een hypothese is dat deze Fc-gemedieerde effectorfuncties van antistoffen hun activiteit beter behouden tegen andere virusvarianten dan antistof-neutralisatie, waardoor het belangrijk is deze in de toekomst beter te bestuderen.

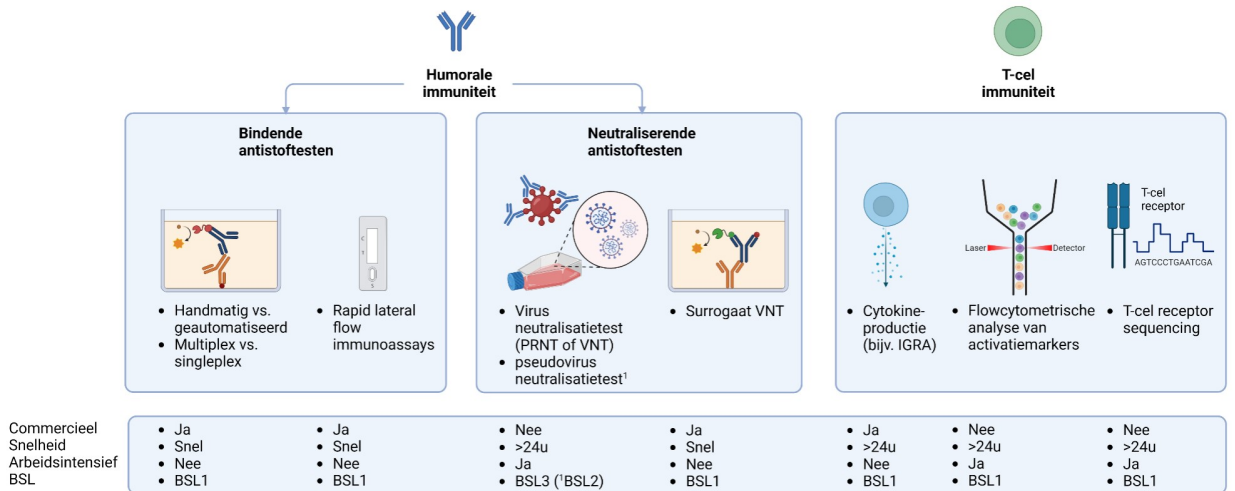
### T-celimmunititeit tegen SARS-CoV-2

Het is duidelijk geworden dat de T-celrespons een belangrijke rol speelt in de afweer tegen SARS-CoV-2 en het voorkomen van ernstige COVID-19. Zowel helper (CD4) als killer (CD8) SARS-CoV-2-specifieke T-cellen zijn meetbaar in het bloed van COVID-19-patiënten, binnen zeven dagen na het ontstaan van de eerste symptomen, met een piek na 14 dagen [20]. De CD4-T-celrespons bestaat voornamelijk uit type 1-helper T-cellen (Th1) die interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) produceren [12], wat bijdraagt aan de ontwikkeling van een cytotoxische CD8+-T-celrespons en het activeren en rekruteren van effectorcellen van het aangeboren immuunsysteem. Behalve Th1-cellen, differentiëren CD4+-T-cellen ook naar T-folliculaire helpercellen (Tfh) die bijdragen aan de productie van neutraliserende antistoffen en de ontwikkeling van memory B-cellen [21]. Geactiveerde CD8+-T-cellen zijn in staat om geïnfecteerde cellen te klaren via directe cytotoxiciteit. De sterkte van de T-celrespons na infectie is sterk gecorreleerd aan de ernst van ziekte en prognose van COVID-19. Een snelle inductie van CD4+- en CD8+-T-cellen is geassocieerd met milde infectie en wordt gedomineerd door een Tfh- en Th1-respons [22,23]. Hoewel de CD8+-T-celinductie trager op gang komt bij ernstig zieke patiënten, gaat deze gepaard met een sterkere expansie van de CD8+-T-celpool (ongeveer 20 procent) [24]. Bij ernstige COVID-19 lijkt de CD4+-T-celbalans te verschuiven naar het type 2-helper T-

cel (Th2)-fenotype [25]. De Th2-T-celrespons is sterk gecorreleerd met immuunpathologie voor andere virale infecties, en daarom wordt gedacht dat een afwijkende Th2-respons verband houdt met ernstige COVID-19 [20,25,26]. Het is niet geheel duidelijk of dit verband causaal is, aangezien er diverse studies zijn die geen verhoogde Th2-respons vinden bij patiënten met ernstige COVID-19 [27].

Vaccinatie resulteert in inductie van een sterke T-celrespons met IFN- $\gamma$ -productie [8,12,14,28]. De vaccineïnduceerde T-celrespons onderscheidt zich op twee vlakken van de humorale respons: (1) T-celresponsen blijven langer stabiel na vaccinatie [12,29], (2) SARS-CoV-2-specifieke T-cellen zijn in hogere mate kruisreactief tegen nieuwe SARS-CoV-2-varianten dan antistoffen [8,12]. Waar vaccinatiegeïnduceerde antistoffen vrijwel niet meer in staat zijn om omikronsubvarianten te herkennen en te neutraliseren, zijn T-cellen minder vatbaar voor enkele mutaties en herkennen ze vooral geconserveerde epitopen in nieuwe varianten. Daardoor blijven T-cellen reactief bij blootstelling aan het virus [30]. Dit is waarschijnlijk de belangrijkste verklaring voor de afnemende kans op ziekenhuisopname ondanks hoge mate van circulatie van omikronsubvarianten. T-cellen zijn niet alleen kruisreactief tegen verschillende SARS-CoV-2-varianten maar kunnen ook kruisreageren met gerelateerde coronavirussen. In het begin van de pandemie werden in verschillende studies SARS-CoV-2-specifieke T-celresponsen gevonden in 30 tot 50 procent van de controlemonsters die verkregen waren voor de pandemie [25]. Aangezien SARS-CoV-2 op dat moment nog niet circuleerde, berusten deze bevindingen hoogstwaarschijnlijk op kruisreactiviteit naar aanleiding van infecties met andere coronavirussen. De seizoensgebonden coronavirussen HCoV-NL63, -229E, -HKU1 en -OC43 zijn al decennia lang een veelvoorkomende oorzaak van respiratoire infecties. De vraag of deze kruisreagerende T-cellen kunnen bijdragen aan bescherming tegen ziekte blijft vooralsnog onbeantwoord. Dat kruisreagerende T-cellen wel degelijk een rol kunnen spelen bij COVID-19 ziekte-ernst wordt gesuggereerd door de bevinding dat kruisreagerende T-cellen minder vaak worden teruggevonden bij patiënten met ernstige COVID-19 [31].

**Figuur 2.** Overzicht van methodes om de humorale en cellulaire immunrespons tegen SARS-CoV-2 te meten.



PRNT = plaque reduction neutralization test; VNT = virus neutralization test; IGRA = Interferon-gamma release assay; BSL= Biosafety level.

## Methodes om de immunrespons te meten

De detectie van SARS-CoV-2-specifieke antistoffen is de meest simpele manier om de immunrespons te meten. Inmiddels zijn er meer dan 85 serologische testen door de FDA geautoriseerd. Deze testen kunnen worden onderverdeeld in assays gericht op het aantonen van antistofbinding en assays gericht op het aantonen van virusneutralisatie (figuur 2). Detectie van bindende antistoffen vindt plaats met behulp van gezuiverde eiwitten, waarmee onderscheid kan worden gemaakt tussen antistoffen gericht tegen het spike-eiwit en antistoffen gericht tegen bijvoorbeeld het nucleocapside-eiwit. Voor de detectie van bindende antistoffen worden verschillende methodes gebruikt. Zo bestaan er kwalitatieve testen (bijvoorbeeld point of care rapid lateral flow-testen) en kwantitatieve testen die een titer uitdrukken in 'binding antibody units'. Er bestaan verschillende testen om neutraliserende antistoffen te meten. De 'plaque reduction neutralization test' (PRNT) geldt als gouden standaard. In deze test wordt serum in olopende verdunningen toegevoegd aan een suspensie van infectieus virus. De PRNT50-waarde wordt bepaald aan de hand van de serumconcentratie waarbij een plaquesreductie van 50 procent wordt geobserveerd als dit virusserum-mengsel aan een monolag cellen wordt toegevoegd.

De uitvoering van deze test vereist speciaal getrainde analisten, kost relatief veel tijd, en dient onder hoge veiligheidscondities te worden uitgevoerd. Vanwege deze beperkingen zijn er alternatieve benaderingen ontwikkeld om neutraliserende antistoffen te meten. Een modificatie die wordt toegepast om de test op een lager inperkingsniveau uit te kunnen voeren is het gebruik van pseudovirussen waarin het spike-eiwit op minder pathogene virussen is geplaatst. Een andere (surrogaat) methode is een competitieve ELISA gebaseerd op inhibitie van de ACE-2-receptor [32]. Hoewel er verschillende technieken zijn ontwikkeld om SARS-CoV-2-specifieke T-celresponsen te bepalen, zijn er nauwelijks commerciële assays goedgekeurd voor gebruik in de diagnostische setting. Dit komt doordat deze assays moeten worden uitgevoerd met levende cellen van de donor, en het moeilijk is om dat te standaardiseren. T-celresponsen kunnen worden gemeten op drie manieren (figuur 2):

(1) functioneel, door te kijken naar de excretie van cytokines wanneer de T-cellen worden gestimuleerd. Assays die hiervoor gebruikt kunnen worden, zijn de interferon gamma release assay (IGRA), ELISpot-assay en ELISA. Deze geven slechts een beperkte hoeveelheid informatie gezien het kleine aantal cytokines dat wordt gemeten;

(2) fenotypisch, door te kijken naar de expressie van activatiemarkers na stimulatie met het spike-eiwit (of andere antigenen), waarbij onderscheid kan worden gemaakt tussen T-celsubtypes en geheugencellen. Veel gebruikte assays zijn de 'activation induced marker' (AIM) en intracellulaire cytokine staining (ICS) assay. Deze assays geven veel informatie, maar zijn ingewikkelder om uit te voeren en de analyse van gegevens is complex. Daardoor zijn deze assays minder geschikt voor diagnostische doeleinden;

(3) genetisch, door te kijken naar het T-celreceptor (TCR)-repertoire in perifeer bloed. Het bepalen van de sequentie van de TCR geeft een beeld van de klonale expansie van T-cellen in een donor en in welke hoeveelheid deze aanwezig zijn in het bloed. Ondanks dat deze analyse complex is, is deze wel te vangen in een standaardworkflow. De hoge kosten vormen een barrière voor het gebruik in de dagelijkse diagnostiek. De IGRA is een van de weinige gevalideerde T-celassays die is goedgekeurd voor gebruik in een diagnostische setting [33]. In deze assay wordt volbloed gestimuleerd voor 16 tot 24 uur in door de fabrikant met antigeen gecoate stimulatiebuizen. In deze buizen zitten peptiden van het SARS-CoV-2-S-eiwit die T-cellen kunnen activeren. Activatie leidt tot productie van (voornamelijk) IFN- $\gamma$ , wat wordt gemeten in een ELISA.

### Correlate of protection

Voor bescherming tegen infectie en ernstige ziekte op de lange termijn spelen zowel de humorale als cellulaire componenten van het adaptieve immuunsysteem een belangrijke rol. Een analyse van zeven fase III-vaccinstudies toonde een sterke non-lineaire relatie tussen de neutraliserende antistoftiter kort na vaccinatie en de mate van bescherming tegen infectie met SARS-CoV-2 [3]. Verschillende andere studies ondersteunen dat hogere antistoftiters na infectie of vaccinatie samenhangen met een lager risico op symptomatische infectie, mits die ook in staat zijn om een nieuw opkomende virusvariant te neutraliseren. Dit wordt verder ondersteund door de therapeutische effectiviteit van monoklonale antistoffen en de preventieve effectiviteit van convalescente plasmatherapie [2]. Bovenstaande bevindingen ondersteunen dat antistoffen beschouwd kunnen worden als een CoP. Logischerwijs volgt daaruit de vraag vanaf welke

afkapwaarde er gesproken kan worden van een beschermende antistoftiter. In een systematisch review kwam een aantal belangrijke beperkingen naar voren die het lastig maken om onderzoeksdata uit verschillende studies te vergelijken [34]. Ten eerste bestaat een gebrek aan standaardisatie in laboratoriummethoden door het gebruik van verschillende assays met verschillende targets. Een tweede kwestie is de timing van bloedafname, die de vergelijking tussen data uit verschillende studies lastig maakt. De beperkte kruisreactiviteit van antistoffen met nieuwe varianten compliceert de analyse nog verder. Voor elke variant met immuunescape zal een andere afkapwaarde gelden, en het is nog maar de vraag of éénzelfde afkapwaarde gebruikt kan worden bij verschillende populaties.

Inmiddels weten we dat ook T-cellen langlevend zijn, reageren op boostervaccinaties, correleren aan ernst van ziekte, en kunnen kruisreageren met nieuwe varianten. Er is nog weinig hard bewijs dat T-cellen een CoP zijn. Infecties met omikronsubvarianten lijken milder te verlopen, terwijl neutraliserende antistoffen juist slecht kruisreageren met deze varianten. De T-cel immuniteit toont een sterkere kruisreactiviteit met omikronsubvarianten, wat mogelijk bijdraagt aan de beperkte ernst van ziekte.

### Immunologische tests in de praktijk

De bovengenoemde uitdagingen vormen ook een beperking voor het gebruik van serologische testen in de klinische praktijk. Op dit moment is het niet mogelijk om op basis van een antistoftiter uitspraken te doen over de mate van bescherming of over besmettelijkheid. Zonder een duidelijke afkapwaarde is er geen indicatie om een antistofftest routinematig te gebruiken ter evaluatie van de vaccinatierespons tegen circulerende virusvarianten. Een positieve antistofftest duidt op vaccinatie en/of een door-gemaakte infectie. Wanneer er naast anti-S-antistoffen tevens anti-N-antistoffen aantoonbaar zijn, wijst dit op een doorgemaakte infectie. Hoewel serologie geen directe bijdrage levert aan diagnostiek van SARS-CoV-2-infecties, kan het soms gebruikt worden om een diagnose van COVID-19-gerelateerde complicaties te onderbouwen op het moment dat er via PCR geen viraal genoom meer aangetoond kan worden. Verder kan serologie in sommige gevallen zinvol zijn om inzichtelijk te maken of een immuungecompromitteerde patiënt wel of niet in staat is om antistoffen



te produceren. Wanneer er sprake is van een verstoorde B-celfunctie kan een IGRA-assay uitkomst bieden om een inschatting te maken van de T-celimmunitet na vaccinatie of infectie.

## Conclusie

Hoewel neutraliserende antistoffen nog steeds als CoP worden gezien, is het duidelijk dat het samenspel tussen immunologische parameters cruciaal is, zowel gedurende een SARS-CoV-2-infectie als ter bescherming tegen infectie. Naast directe virusneutralisatie dragen antistoffen ook bij via Fc-gemedieerde effectorfuncties, die een brug vormen tussen de adaptieve immuunrespons en de aangeboren afweer. Behalve antistoffen worden ook T-cellen geïnduceerd door zowel infectie als vaccinatie. De cellulaire immunitet toont een sterke samenhang met de ernst en duur van COVID-19. Bovendien is de T-celimmunitet stabiel en robuuster tegen nieuwe varianten dan de humorale immunitet. Een volledig beeld van SARS-CoV-2-immunitet vereist daarom een brede blik, met oog voor de verschillende complementaire componenten van het immuunsysteem, die samenwerken en van elkaar afhankelijk zijn.

## Referenties

1. Plotkin SA, Gilbert PB. Nomenclature for immune correlates of protection after vaccination. *Clin Infect Dis*. 2012;54(11):1615-7.
2. Misra A, Theel ES. Immunity to SARS-CoV-2: What Do We Know and Should We Be Testing for It? *J Clin Microbiol*. 2022:e0048221.
3. Khoury DS, Cromer D, Reynaldi A, et al. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nat Med*. 2021;27(7):1205-11.
4. Cromer D, Juno JA, Khoury D, et al. Prospects for durable immune control of SARS-CoV-2 and prevention of reinfection. *Nat Rev Immunol*. 2021;21(6):395-404.
5. Iyer AS, Jones FK, Nodoushani A, et al. Persistence and decay of human antibody responses to the receptor binding domain of SARS-CoV-2 spike protein in COVID-19 patients. *Sci Immunol*. 2020;5(52).
6. Laidlaw BJ, Ellebedy AH. The germinal centre B cell response to SARS-CoV-2. *Nat Rev Immunol*. 2022;22(1):7-18.
7. Roltgen K, Powell AE, Wirz OF, et al. Defining the features and duration of antibody responses to SARS-CoV-2 infection associated with disease severity and outcome. *Sci Immunol*. 2020;5(54).
8. Geers D, Shamier MC, Bogers S, et al. SARS-CoV-2 variants of concern partially escape humoral but not T-cell responses in COVID-19 convalescent donors and vaccinees. *Sci Immunol*. 2021;6(59).
9. Goel RR, Apostolidis SA, Painter MM, et al. Distinct antibody and memory B cell responses in SARS-CoV-2 naive and recovered individuals following mRNA vaccination. *Sci Immunol*. 2021;6(58).

10. Lee A, Wong SY, Chai LYA, et al. Efficacy of covid-19 vaccines in immunocompromised patients: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2022;376:e068632.
11. Gaebler C, Wang Z, Lorenzi JCC, et al. Evolution of antibody immunity to SARS-CoV-2. *Nature*. 2021;591(7851):639-44.
12. GeurtsvanKessel CH, Geers D, Schmitz KS, et al. Divergent SARS-CoV-2 Omicron-reactive T and B cell responses in COVID-19 vaccine recipients. *Sci Immunol*. 2022;7(69):eabo2202.
13. Andrews N, Tessier E, Stowe J, et al. Duration of Protection against Mild and Severe Disease by Covid-19 Vaccines. *N Engl J Med*. 2022;386(4):340-50.
14. Sablerolles RSG, Rietdijk WJR, Goorhuis A, et al. Immunogenicity and Reactogenicity of Vaccine Boosters after Ad26.COV2.S Priming. *N Engl J Med*. 2022;386(10):951-63.
15. Dejnirattisai W, Huo J, Zhou D, et al. SARS-CoV-2 Omicron-B.1.1.529 leads to widespread escape from neutralizing antibody responses. *Cell*. 2022;185(3):467-84 e15.
16. Chalkias S, Harper C, Vrbicky K, et al. A Bivalent Omicron-Containing Booster Vaccine against Covid-19. *N Engl J Med*. 2022;387(14):1279-91.
17. Matuchansky C. Mucosal immunity to SARS-CoV-2: a clinically relevant key to deciphering natural and vaccine-induced defences. *Clin Microbiol Infect*. 2021;27(12):1724-6.
18. Sajadi MM, Myers A, Logue J, et al. Mucosal and Systemic Responses to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Vaccination Determined by Severity of Primary Infection. *mSphere*. 2022:e0027922.
19. Yu Y, Wang M, Zhang X, et al. Antibody-dependent cellular cytotoxicity response to SARS-CoV-2 in COVID-19 patients. *Signal Transduct Target Ther*. 2021;6(1):346.
20. Bergamaschi L, Mescia F, Turner L, et al. Longitudinal analysis reveals that delayed bystander CD8+ T cell activation and early immune pathology distinguish severe COVID-19 from mild disease. *Immunity*. 2021;54(6):1257-75 e8.
21. Juno JA, Tan HX, Lee WS, et al. Humoral and circulating follicular helper T cell responses in recovered patients with COVID-19. *Nat Med*. 2020;26(9):1428-34.
22. Tan AT, Linster M, Tan CW, et al. Early induction of functional SARS-CoV-2-specific T cells associates with rapid viral clearance and mild disease in COVID-19 patients. *Cell Rep*. 2021;34(6):108728.
23. Nelson RW, Chen Y, Venezia OL, et al. SARS-CoV-2 epitope-specific CD4(+) memory T cell responses across COVID-19 disease severity and antibody durability. *Sci Immunol*. 2022;7(73):eabl9464.
24. Stephenson E, Reynolds G, Botting RA, et al. Single-cell multi-omics analysis of the immune response in COVID-19. *Nat Med*. 2021;27(5):904-16.
25. Weiskopf D, Schmitz KS, Raadsen MP, et al. Phenotype and kinetics of SARS-CoV-2-specific T cells in COVID-19 patients with acute respiratory distress syndrome. *Sci Immunol*. 2020;5(48).
26. Pavel AB, Glickman JW, Michels JR, Kim-Schulze S, Miller RL, Guttman-Yassky E. Th2/Th1 Cytokine Imbalance Is Associated With Higher COVID-19 Risk Mortality. *Front Genet*. 2021;12:706902.
27. Aalebrahim-Dehkordi E, Molavi B, Mokhtari M, et al. T helper type (Th1/Th2) responses to SARS-CoV-2 and influenza A (H1N1) virus: From cytokines produced to immune responses. *Transpl Immunol*. 2022;70:101495.
28. Tarke A, Coelho CH, Zhang Z, et al. SARS-CoV-2 vaccination induces immunological T cell memory able to cross-recognize variants from Alpha to Omicron. *Cell*. 2022;185(5):847-59 e11.
29. Jung JH, Rha MS, Sa M, et al. SARS-CoV-2-specific T cell memory is.

sustained in COVID-19 convalescent patients for 10 months with successful development of stem cell-like memory T cells. *Nat Commun.* 2021;12(1):4043

30. Tarke A, Sidney J, Methot N, et al. Impact of SARS-CoV-2 variants on the total CD4(+) and CD8(+) T cell reactivity in infected or vaccinated individuals. *Cell Rep Med.* 2021;2(7):100355.

31. Bacher P, Rosati E, Esser D, et al. Low-Avidity CD4(+) T Cell Responses to SARS-CoV-2 in Unexposed Individuals and Humans with Severe COVID-19. *Immunity.* 2020;53(6):1258-71 e5.

32. Embregts CWE, Verstrepen B, Langermans JAM, et al. Evaluation of a multi-species SARS-CoV-2 surrogate virus neutralization test. *One Health.* 2021;13:100313.

33. Barreiro P, Sanz JC, San Roman J, et al. A Pilot Study for the Evaluation of an Interferon Gamma Release Assay (IGRA) To Measure T-Cell Immune Responses after SARS-CoV-2 Infection or Vaccination in a Unique Cloistered Cohort. *J Clin Microbiol.* 2022;60(3):e0219921.

34. Perry J, Osman S, Wright J, et al. Does a humoral correlate of protection exist for SARS-CoV-2? A systematic review. *PLoS One.* 2022;17(4):e0266852.

# Arbovirusserologie in een veranderende wereld

Louella Kasbergen\*, Babs Verstrepen\*, Corine Geurts van Kessel, Reina Sikkema, Marion Koopmans

## Samenvatting

Arbovirussen komen in Nederland relatief weinig voor, maar toenemend reisverkeer en de opmars van arbovirussen door klimaatverandering zullen hoogstwaarschijnlijk in de komende decennia leiden tot een toename van het aantal patiënten dat zich presenteert met arbovirale klachten. Dit artikel bespreekt de mogelijkheden en beperkingen van arboviruslaboratoriumdiagnostiek en het belang van een uitgebreide anamnese, nu en in de toekomst.

## Abstract

Arboviruses are relatively unknown in the Netherlands, however, increasing travel and climate change will likely lead to an increasing number of arbovirus infected patients in the coming decades. This article describes the current and future possibilities and limitations of laboratory diagnostics and underlines the value of a complete medical history, including travel and vaccination.

## Introductie

Arbovirussen, voluit ARthropod-BORne virussen, danken hun naam aan de geleedpotige vectoren (artropoden) die nodig zijn voor transmissie van arbovirussen. Teken en muggen maar ook zandvliegen en knutten kunnen als vector dienen voor de transmissie tussen gastheren [1]. Mensen maken bij sommige arbovirussen zoals westnijlvirus, Japanse encefalitisvirus en usutu virus geen deel uit van de transmissiecyclus, omdat zij onvoldoende viremie ontwikkelen om de vector te infecteren tijdens een beet (*figuur 1, pagina 14*). Voor andere arbovirussen, zoals zikavirus, gelekoortsvirus, chikungunyavirus en denguevirus kan de mens wel als reservoir dienen, wat kan leiden tot explosieve uitbraken (*figuur 1A*) [1,2]. In veel gevallen zijn vogels het reservoir voor arbovirussen zoals bij het westnijlvirus, Japanse encefalitisvirus en usutu virus (*figuur 1B*).

De meerderheid van de arbovirussen die klinisch relevant zijn voor de mens behoort tot de families van

de *Flaviviridae* (genus *flavivirus*) en *Togaviridae* (genus *alphavirus*). Tot de bekende flavivirussen behoren zikavirus, denguevirus, westnijlvirus, gelekoortsvirus, tekenencefalitisvirus en Japanse encefalitisvirus, en tot de alphavirussen onder meer chikungunyavirus, sindbisvirus en de paardenencefalitisvirussen [1]. Het overgrote deel van de infecties met deze arbovirussen verloopt asymptomatisch [1]. In de overige gevallen is er sprake van algemene malaise die gepaard kan gaan met griepachtige verschijnselen als koorts, hoofdpijn, misselijkheid en spierpijn [1]. Bij ongeveer 1 procent van de infecties verloopt het ziektebeeld ernstiger, waarbij vaak één, of een combinatie, van drie syndromen wordt beschreven [1]:

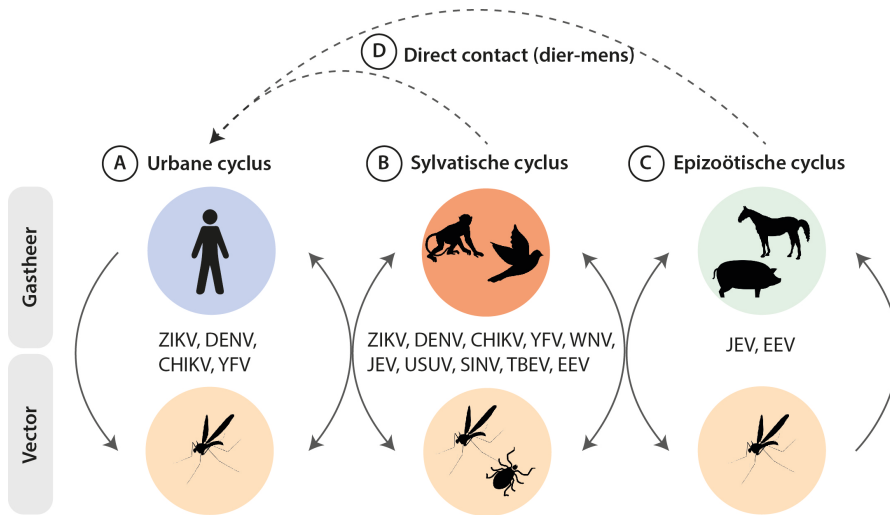
1. huiduitslag zoals exantheem of maculopapulaire uitslag en/of artralgie, polyartralgie en polyarthritis;
2. neurologisch syndroom bestaande uit myelitis, meningitis en/of encefalitis;
3. hemorragisch syndroom bestaande uit petechiën, spontane of aanhoudende bloedingen en/of shock.

Daarnaast zijn voor individuele virussen specifiekere symptomen of ziektebeelden zoals hepatitis, gastro-intestinale pijn, bronchopneumonie en conjunctivitis beschreven [1].

Ongeveer 80 procent van de wereldbevolking leeft in arbovirusendemische of -epidemische regio's met een reële kans op blootstelling [3]. Tot ongeveer zes jaar geleden werden arbovirussen in Nederland alleen als importziekte gevonden bij reizigers terugkerend uit endemische gebieden. Casuïstiek in Nederland wordt

\*Deze auteurs hebben evenveel bijgedragen. Erasmus MC referentielab, Rotterdam, Nederland, afdeling Viroscience, drs. L.M.R. Kasbergen, PhD-kandidaat; dr. B.E. Verstrepen, onderzoeker; dr. C.H. Geurts van Kessel, arts-microbioloog en onderzoeker; dr. R.S. Sikkema, dierenarts en onderzoeker; prof. M.P.G. Koopmans, afdelingshoofd Viroscience. Correspondentieadres: drs. L.M.R. Kasbergen (l.kasbergen@erasmusmc.nl).

**Figuur 1.** Transmissiecycli van arbovirussen.



A) Urbane cyclus tussen mug en mens, mens is hier een amplificerende gastheer. B) Sylvatische cyclus tussen gewervelde gastheren (reservoirs) en muggen of teken, waarbij dieren de amplificerende gastheer zijn. C) Epizoötische cyclus tussen gehouden dieren (amplificerende gastheer) en muggen. D) Transmissie via direct contact vanuit dieren naar mensen. Arbovirussen kunnen soms overgaan op een andere transmissie cyclus, in dit geval is de nieuwe gastheer vaak een eind-gastheer.

ZIKV = zikavirus, DENV = denguevirus, CHIKV = chikungunyavirus, YFV = gelekoortsvirus, WNV = westnijlvirus, JEV = Japanse encefalitisvirus, USUV = usutu virus, SINV = sindbisvirus, TBEV = tekenencefalitisvirus, EEV = paardenencefalitisvirussen.

mede bepaald door de epidemiologie wereldwijd. Zo is het aantal diagnoses van dengue-, gelekoorts-, chikungunya- en zikavirus bij reizigers duidelijk toegenomen tijdens uitbraken buiten Europa. De toename werd tijdelijk onderbroken doordat er tijdens de wereldwijde COVID-19-pandemie minder buitenlandse reizen werden gemaakt. Door klimaatverandering en daarmee gepaard gaande verdere verspreiding van vectoren, zijn arbovirale infecties echter niet langer voorbehouden aan tropische gebieden. Een voorbeeld hiervan is de introductie van het westnijlvirus en usutu virus in Nederland [4,5]. Deze worden overgedragen door de veel voorkomende Europese huismug (*Cx. Pipiens*) [4,5]. Daarnaast wordt, door *Ixodes ricinus*-teken in bosrijke gebieden, ook het tekenencefalitisvirus sinds 2016 overgedragen in Nederland [6]. Tot op heden komen arbovirusinfecties in Nederland (nog) slechts voor in kleine aantallen, met een lage ziektelast tot gevolg. Als gevolg van de verwachte veranderingen in de verspreiding

van arbovirussen, zullen zij echter een steeds belangrijker onderdeel worden van de differentiaal-diagnose bij patiënten voor wie diagnostiek wordt verricht in Nederland.

Momenteel wordt de differentiële arbovirusdiagnose gesteld op basis van ziekteverschijnselen in combinatie met een (reis)anamnese en laboratoriumdiagnostiek. De belangrijkste knelpunten bij het stellen van de diagnose zijn de sterk overlappende ziekteverschijnselen, cocirculatie van verschillende (verwante) arbovirussen in endemische (reis)gebieden, en kruisreactie tussen antistoffen tegen verwante arbovirussen.

## Arbovirale diagnostiek in Nederland

### Moleculaire laboratoriumdiagnostiek

Arbovirale laboratoriumdiagnostiek is onder te verdelen in het aantonen van viraal genoom of virale eiwitten, en het aantonen van antistoffen. De keuze



voor de detectiemethode is afhankelijk van de periode die is verstreken tussen blootstelling aan het virus en het tijdstip van de diagnostiek. Arbovirussen veroorzaken meestal zelflimiterende infecties met een kortdurende viremie (figuur 2). Alleen tijdens deze periode kan het virus in bloed aangetoond worden. Een veelgebruikte laboratoriumtest hiervoor is een nucleïnezuuramplificatietest (NAAT), zoals RT-qPCR, waarbij genetisch materiaal van het virus niet alleen wordt aangetoond maar ook gekwantificeerd [7]. Arbovirus-RT-qPCR's zijn meestal hoogspecifiek. De tijdperiode waarin het virus kan worden aangetoond in serum met deze techniek is echter beperkt [7,8]. Dit komt doordat de piek van de virale load in serum slechts enkele dagen na infectie ligt. Hierdoor is het virus in veel gevallen niet meer detecteerbaar wanneer ziektesymptomen zich presenteren (figuur 2) [7,8]. In urine, sperma of volbloed kan het virus langer aantoonbaar blijven [8]. Bij neurologische symptomen kan onderzoek van de cerebrospinale vloeistof (CSF) zinvol zijn, ook al is in CSF de virale load vaak laag of kortdurend detecteerbaar [9]. Proefdierstudies hebben aangetoond dat, bijvoorbeeld voor westnijl-virus, viraal genetisch materiaal langer aantoonbaar

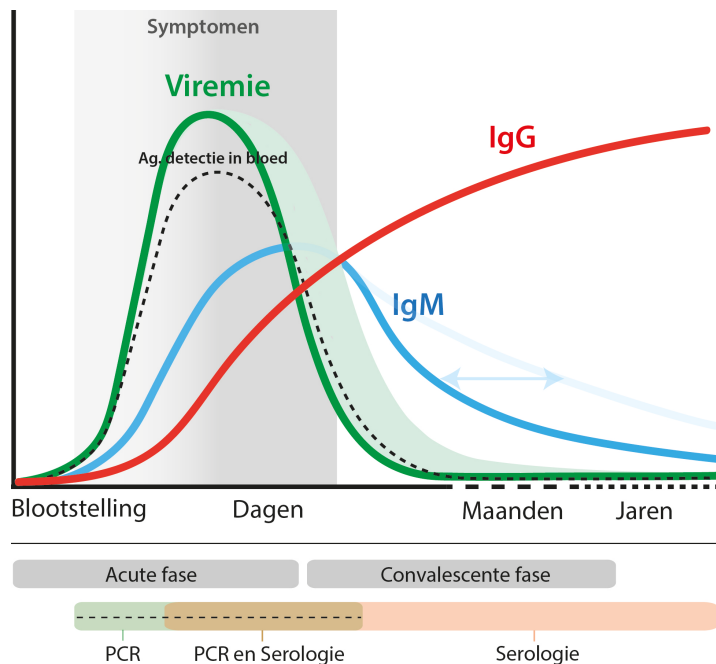
kan zijn in organen als de milt en lymfeklierweefsel, maar voor diagnostische doeleinden worden deze doorgaans niet bemonsterd [10]. Naast de NAAT, wordt in diagnostische laboratoria vaak gebruikgemaakt van antigeendetectie, zoals niet-structurele eiwit 1 (NS1), met name bij denguevirus [11]. Denguevirus-NS1-testen hebben een hoge specificiteit, zijn snel en minder kostbaar [11]. Daarnaast is NS1-antigeen veelal een aantal dagen langer aantoonbaar in bloed dan het RNA (figuur 2, 4) [11].

### Serologische laboratoriumdiagnostiek

#### Bindende antistoffen

Na de acute fase van de infectie is men aangewezen op de detectie van antilichamen in serum of CSF [9, 12]. Bij de detectie van bindende antistoffen wordt onderscheid gemaakt tussen IgM- en IgG- antistoffen. IgM-antistoffen zijn vroeg detecteerbaar, vanaf enkele dagen na infectie, en kunnen langdurig aanwezig blijven na een primo-infectie [12]. IgG-antistoffen komen na ongeveer 10 dagen op en zijn vaak jaren aantoonbaar (figuur 2) [12]. Voor antistofdetectie zijn

**Figuur 2.** Kinetiek van arbovirusviremie en antistofrespons na infectie.

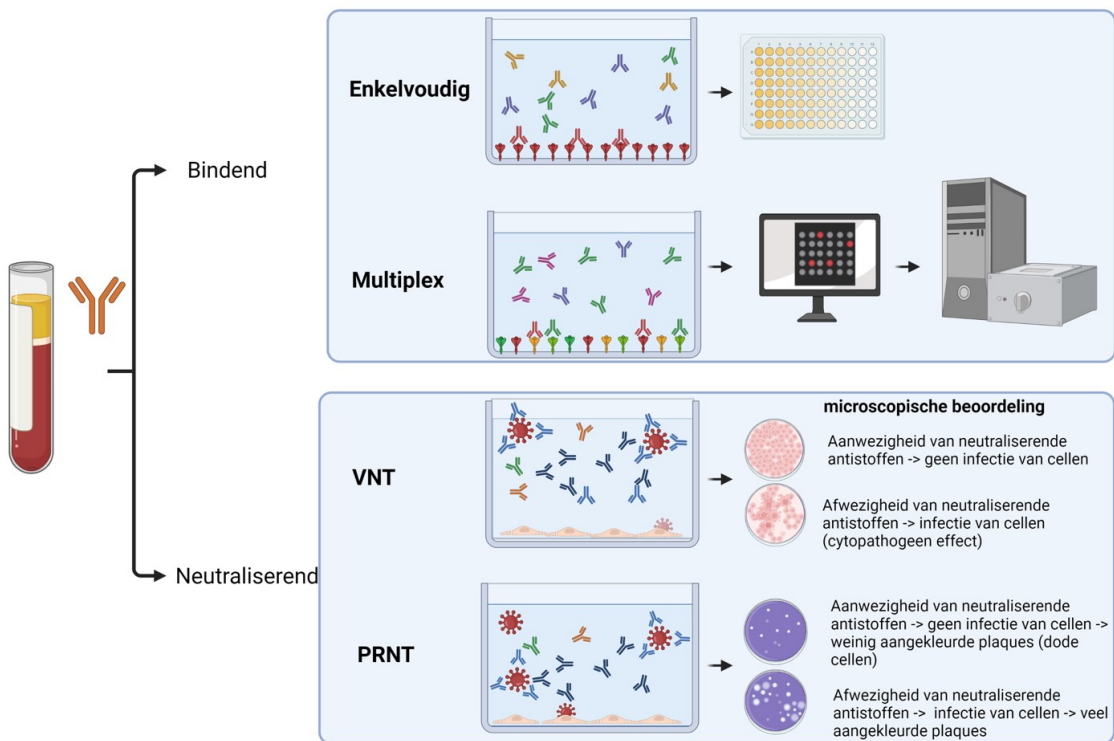


Globale weergave van de kinetiek van arbovirusdetectie in serum (donker-groen) en in urine of volbloed (lichtgroen), antigeendetectie in bloed (antigenemie) (zwart gestippeld), IgM (donkerblauw en lichtblauw) en IgG (rood) en symptomatische periode na een arbovirusinfectie. Tijdens de (vroeg) acute fase zijn arbovirussen aan te tonen met behulp van moleculaire en antigene detectietechnieken, maar door het uitblijven van ernstige klinische verschijnselen verloopt deze fase doorgaans onopgemerkt. De convalescente fase kenmerkt zich door de inductie van antistoffen. De geïnduceerde antistoffen vertonen echter vaak veel kruisreactiviteit met verwante arbovirussen, wat de differentiaaldiagnose op basis van serologie bemoeilijkt.

diverse platformen beschikbaar zoals 'enzyme linked immunosorbent'-assay (ELISA), indirect fluorescent antibody (IFA) testen, protein microarrays [13] en western blot (figuur 3). Veel diagnostische laboratoria gebruiken geautomatiseerde systemen gebaseerd op het ELISA-principe. Serologische testen maken gebruik van de fysische bindingscapaciteit van immuunglobulinen aan een virusantigeen, dat vervolgens zichtbaar gemaakt wordt door een enzymatische reactie of met behulp van fluorescentie (figuur 3). Voor detectie van antistoffen tegen arbovirussen met ELISA en/of een western blot wordt veelal gebruikgemaakt van de structurele eiwitten

premembran (prM) en envelop (E) en het eerdergenoemde niet-structurele eiwit NS1 als antigeen (figuur 4). Antilichamen gedetecteerd door IFA zijn echter niet gericht tegen één eiwit van het virus, maar tegen een breed scala aan virale eiwitten. In Nederland kunnen deze serologische testen worden aangevraagd bij diverse diagnostische laboratoria die gebruikmaken van commercieel verkrijgbare kits, waarbij de producent en het laboratorium beide geacht worden zorg te dragen voor de gewaarborgde kwaliteitscontrole en validaties. Bij ongevaccineerde patiënten met primo-infecties is deze vorm van serologische diagnostiek goed bruikbaar. Bij het

**Figuur 3.** Principe van arbovirale serologische testen.



Bovenste panel: bindende antistoffen. Enkelvoudige testen detecteren antilichamen tegen één targeteiwit of virus. Multiplextesten detecteren antilichamen tegen verschillende eiwitten of virussen tegelijkertijd. De interpretatie is echter complex en vereist steeds vaker aanvullende analyses of rekenkundige modellen.

Onderste panel: neutralisatietesten waarbij serieel verdund serum gemengd wordt met een vaste hoeveelheid gekweekt virus. Bij virusneutralisatietesten (VNT) wordt de mate van neutralisatie bepaald door kwantificering van ongebonden antilichamen, kijkend naar het cytopathogeen effect met gebruik van een lichtmicroscop. Bij plaquereductie-neutralisatietesten (PRNT) gebeurt dit door kwantificering van niet-geneutraliseerd virus dat in staat is kweekcellen te infecteren wat zich uit in het vormen van plaques. Deze plaques kunnen vervolgens worden aangekleurd en gekwantificeerd. Dit figuur is gemaakt in BioRender.

merendeel van de patiënten wordt de klinische relevantie van de testuitslag echter belemmerd door de complexiteit van de interpretatie van de resultaten. Dit komt met name door kruisreactie van de antistoffen met antigenen van verwante virussen, zeker bij personen die vaker zijn blootgesteld door eerdere vaccinaties en/of infecties.

Voor reizigers terugkerend uit bijvoorbeeld Zuid-Amerika, Azië, Afrika of andere endemische regio's zijn enkelvoudige testen gericht op het aantonen van bindende antistoffen vaak niet afdoende om de ziekteverwekker te identificeren. De antistof-kruisreactiviteit, in combinatie met zowel beperkte informatie over de lokale epidemiologische situatie van verwante cocirculerende virussen in het reisgebied, als de potentiële aanwezigheid van antistoffen opgewekt door (reizigers)vaccinaties, beïnvloeden namelijk de serologische interpretatie. Daarnaast is na een langdurig verblijf in een endemische of epidemische regio mogelijk sprake van meer opeenvolgende blootstellingen aan verwante virussen. Hierdoor kan de interpretatie nog verder beïnvloed worden door een fenomeen genoemd 'original antigenic sin' [14]. Hierbij heeft het immuunsysteem de neiging om kruisreactieve antistoffen, die zijn aangemaakt na een primo-infectie, te stimuleren bij een tweede infectie met een verwant virus [14]. Een vervolgs serum na minimaal twee weken kan de interpretatie ondersteunen en is daarom van groot belang bij het aanvragen van arbovirusserologie.

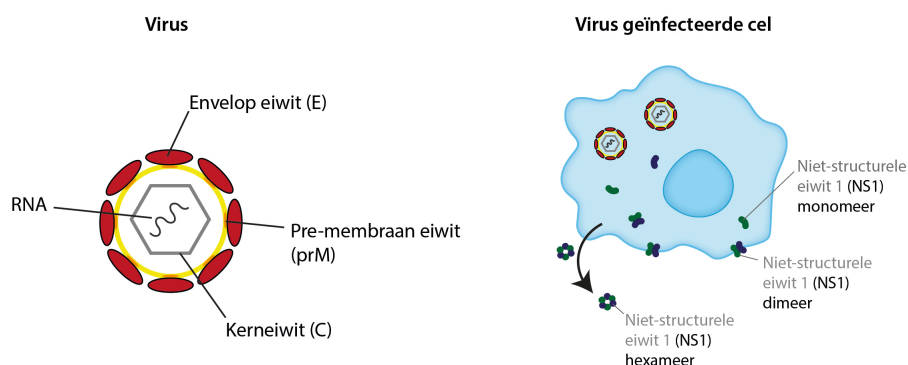
Voor veel laboratoria is het een uitdaging om arbovirus-

serologie goed te valideren vanwege schaarste aan benodigde materialen, waaronder sera van bewezen arbovirusinfecties. Samenwerking met de referentielaboratoria voor arbovirale infecties in Nederland (RIVM en Erasmus MC) kan hierbij richting geven. Het is naar onze mening wenselijk om bij nieuwe arbovirusintroductions in Nederland validaties gezamenlijk op te zetten en uit te voeren.

### Neutraliserende antistoffen

De specificiteit van serologie kan worden verhoogd door het meten van neutraliserende antistoffen, waarbij naar de functionaliteit van antistoffen wordt gekeken. Virusneutralisatietesten (VNT) en plaquereductie-neutralisatietesten (PRNT) worden daarom gezien als de gouden standaard in arbovirusserologie en worden veelal uitgevoerd door gespecialiseerde (referentie) laboratoria [15]. De testen worden vaak ingezet om assayvalidatie mogelijk te maken en om data van eerdere serologische bepalingen te bevestigen, hoewel ook neutralisatietesten niet altijd volledig uitsluitend kunnen geven door de antistofkruisreactiviteit. Om de neutraliserende capaciteit van antistoffen tegen een specifiek virus aan te tonen in een patiëntenserum, worden verschillende verdunningen van het serum blootgesteld aan een gestandaardiseerde hoeveelheid infectieus virus (*figuur 3*). Vervolgens wordt de mix toegevoegd aan gekweekte cellen. De mate waarin deze cellen worden beschermd tegen infectie, is een maat voor de neutraliserende capaciteit van het patiëntenserum (*figuur 3*). Neutrali-

**Figuur 4.** Schematische weergave van flavivirusdeeltjes en virusgeïnfecteerde cellen.



Flavivirusdeeltjes bevatten RNA en drie structurele eiwitten (envelopeiwit (E), pre-membraaneiwit (prM) en kerneiwit (C)). Infectie van cellen leidt tot de productie van onder andere het niet-structurele eiwit 1 (NS1), dimeren in het celmembraan en secretie van NS1-hexameren in het bloed.

satiëtesten zijn over het algemeen in-house ontwikkelde testen waarbij de keuze van het gebruikte virusisolaat, validatie, standaardisatie en kwaliteitscontrole de nodige aandacht, expertise en tijd vragen. Neutralisatiëtesten zijn daarom minder geschikt als routinematig diagnostisch hulpmiddel ten tijde van acuut hoog aanbod. Ze zijn echter onontbeerlijk bij een uitbraak met 'nieuwe' virussen.

#### Betere differentiële diagnose door multiplextesten, uitgebreidere anamnese en verschillende bloedafnames

Een uitgebreidere anamnese, zoals gedetailleerde vaccinatie- en reishistorie, in combinatie met het ziektebeeld en serologische analyse, helpt bij het maken van een differentiële diagnose (figuur 5). Gegevens over de vaccinatie- of reishistorie ontbreken echter vaak in het patiëntendossier [16]. Daarnaast kan simultaan testen op antistoffen tegen verschillende cocirculerende virussen en/of vaccins enige mate van zekerheid bieden door eiwitbindende of virus-neutraliserende antistofprofielen te interpreteren. Zo zijn er multiplexplatformen ontwikkeld waaronder luminextesten [17] en proteïn microarrays [13], waarmee het mogelijk is om tegelijkertijd bindende antistoffen te kunnen kwantificeren tegen verschillende (verwante) virussen in één gevalideerde test (figuur 3). Deze testen gebruiken vaak de virale NS1-eiwitten omdat deze minder geconserveerde eiwitdelen bevatten dan bijvoorbeeld de E-eiwitten, wat zorgt voor meer specificiteit [13]. Een ander voordeel van NS1 als detectieantigeen is dat er geen problemen zijn met kruisreactie vanuit niet-replicerende vaccins (zonder NS1), zoals volledig geïnactiveerde vaccins of eiwitvaccins. NS1 wordt namelijk geproduceerd in geïnfecteerde cellen waarna antistoffen tegen viraal NS1 worden aangemaakt (figuur 4). Tot slot kan er, door multiplextesten te combineren met longitudinale bloedafnames, gekeken worden naar opkomende of een kwantitatieve toename van specifieke antistoffen. Veelal zal bij het inzetten van multiplexserologie de kinetiek namelijk het duidelijkste zijn bij het virus van de actuele infectie. Helaas ontbreken in de praktijk vaak gepaarde sera (vroeg en laat na infectie).

#### Virusintroductions en uitbreiding in Europa

Onder invloed van onder andere klimaatverandering, internationale handel en reizen, kunnen vectoren - en daarmee de bijbehorende virussen - zich steeds verder

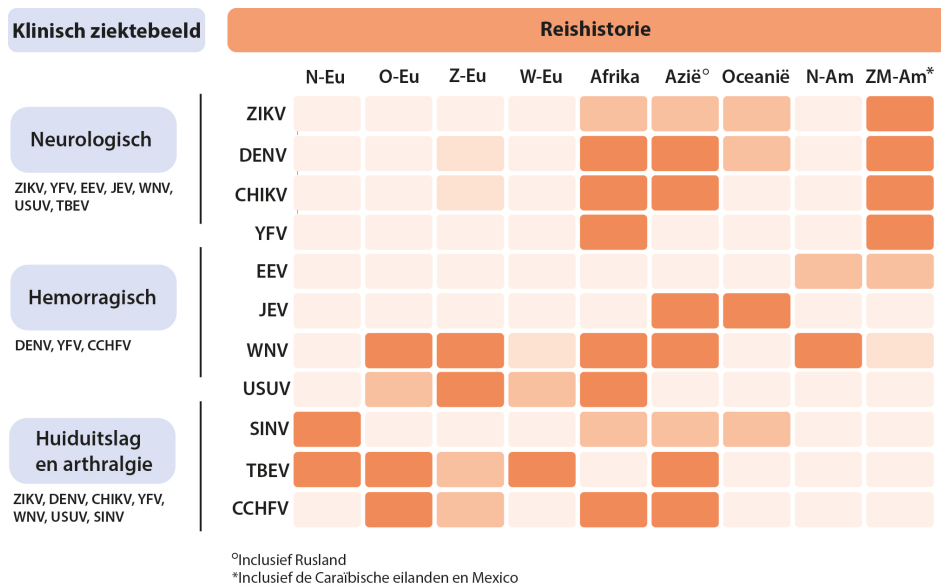
verspreiden. De afgelopen decennia werden de eerste tekenen hiervan aantoonbaar in Europa. De introductie van geïmporteerde arbovirussen in lokaal gevestigde populaties van de Aziatische tijgermug (*Ae. Albopictus*) leidde tot transmissie van chikungunyavirus in Italië (2007, 2017) en Frankrijk (2010, 2014, 2017) [18], denguevirus in Kroatië (2010), Frankrijk (2013-2015, 2018-2022), Spanje (2018, 2019) en Italië (2020) [19], en zikavirus in Frankrijk in 2019 [20]. Bovendien verspreiden door teken overgedragen arbo-virussen in Europa zich steeds verder zoals teken-encefalitis [6], en trekken Hyalommateken steeds verder Europa in, waar ze zorgen voor sporadische humane gevallen van het krim-congovirus in Spanje en de Balkanlanden [21]. Daarnaast hebben klimaateffecten ook invloed op de ecologie van inheemse vectoren zoals de Europese huismug (*Cx. pipiens*), wat leidt tot een toenemende kans op uitbraken met onder andere westnijlvirus en usutuvirus. Sinds 2011 rukt het westnijlvirus steeds verder op vanuit Zuid-Europa, met lokale uitbraken en een verhoogd aantal ernstig zieke patiënten met neurologische verschijnselen als gevolg [22].

#### Risico voor Nederland

Het risico op de introductie van (nieuwe) nog niet circulerende arbovirussen kan worden ingeschat door te kijken naar de verspreiding en aanwezigheid van vectoren. In Nederland werden de eerste humane westnijlvirus gevallen gedetecteerd in 2020, en sinds 2016 worden zowel het usutuvirus als het teken-encefalitisvirus sporadisch gevonden [4-6]. Een ander arbovirus, het sindbisvirus, is endemisch in Noord-Europa, waar het sporadisch leidt tot grote uitbraken. Omdat sindbisvirus wordt overgedragen door *Culex*-soorten die ook in Nederland voorkomen, is de kans op toekomstige circulatie van dit virus in Nederland aannemelijk [23], net als het Japanse encefalitisvirus en riftvalleyfevervirus dat door dezelfde muggen wordt overgedragen [23,24]. Verder worden vectoren die van belang zijn voor enkele andere arbovirussen zoals *Ae. albopictus* en Hyalomma-teken (2018-2020) sporadisch aangetroffen in Nederland [25,26]. Hoewel deze vectoren tot nu toe alleen geïmporteerd voorkwamen, bestaat de kans op vestiging met het risico op transmissie van de arbovirussen die daarbij horen [25,26].



**Figuur 5.** Aanvullende anamnese in arbovirusdiagnostiek bij Nederlandse reizigers.



Het klinisch ziektebeeld laat drie overlappende categorieën zien. De reishistorie kan helpen voor de verdere diagnose, door het risico van blootstelling voor ieder arbovirus per regio te bekijken (informatie is gebaseerd op WHO, ECDC, CDC). De verdeling van regio's is gebaseerd op het United Nations geoscheme, op een paar uitzonderingen na aangegeven met <sup>o</sup> en <sup>\*</sup>. N-Eu = Noord-Europa, O-Eu = Oost-Europa, Z-Eu = Zuid-Europa, W-Eu = West-Europa, N-Am = Noord-Amerika, ZM-Am = Zuid- en Midden-Amerika.

## Nieuwe wereld vereist nieuwe testmogelijkheden

Om de huidige en toekomstige uitdagingen op het gebied van arbovirale diagnostiek het hoofd te bieden, werken verschillende onderzoeksvelden samen aan innovatieve projecten. Een bekende methode om serologische testen specifiek te maken is het aanpassen van de antigenen zodat alleen virusspecifieke antistoffen binden. Zo kan flavivirusdiagnostiek geoptimaliseerd worden door gebruik te maken van envelopeiwitten met mutaties waardoor kruisreactieve antistoffen niet meer binden [27]. Een nadeel hiervan kan zijn dat de testsensitiviteit omlaaggaat. Multiplex microarray-testen, met een combinatie van zowel specifieke (gemuteerde) antigenen als meer geconserveerde eiwitten van veel verschillende (verwante) arbovirussen, zullen daarom een steeds belangrijkere rol spelen in de toekomst [13]. Het gebruik van dergelijke complexere read-outs vraagt echter om een nieuwe aanpak van het analyseproces. Zo is het zaak om de complexe anti-

stofeiwitpatronen van elkaar te onderscheiden en te verbinden aan blootstellingen aan specifieke virussen, bijvoorbeeld door middel van clustering-technieken of zelfs machinelearningmodellen.

Ook bij de ontwikkeling van innovatieve serologische testen blijft het validatieproces een bottleneck. Ondanks het belang ervan, zijn er wereldwijd slechts beperkt validatiecohorten van voldoende kwaliteit beschikbaar. Essentiële gegevens in de anamnese zijn vaak niet verzameld of vereisen medisch-ethische toetsing voor gebruik. Met name in acute situaties bemoeilijkt dit snelle actie. Het opstellen van breedgedragen medisch-ethische toestemming voor geanonimiseerd gebruik van materialen voor assayvalidatie kan hierbij een verschil maken. Tot slot is er vaak een gebrek aan longitudinale afnames voor de validatie van assays in verschillende fases van infectie. Dit toont het belang aan van serumbankstudies, waarin sera worden afgenomen en opgeslagen voor toekomstige vraagstellingen en het verbeteren van diagnostiek.

## Vorbereiden op toekomstige uitbraken: waar verschillende disciplines samen komen

De huidige focus binnen de diagnostiek ligt vooral op bekende arbovirussen. Echter, nieuwe (zoönotische) introducties zijn echter niet uit te sluiten. Een goed voorbeeld was de introductie van het zikavirus in Zuid-Amerika, waar het een golf van aangeboren afwijkingen veroorzaakte door infectie tijdens de zwangerschap [28]. Dit geeft het belang aan van zowel een goede samenwerking tussen laboratoria voor een snelle en efficiënte respons, als van vroegtijdige detectie van nieuwe introducties door monitoring van arbovirussen in lokale vectorpopulaties en (wilde) dieren die mogelijk kunnen functioneren als gastheer. Trekvogels zijn amplificerende gastheren voor arbovirussen zoals westnijlvirus en usutu virus, en spelen een grote rol in de verspreiding door introductie in naïeve ecosystemen die geschikt zijn voor verdere transmissie. In Nederland werkt het referentielaboratorium van het Erasmus Medisch Centrum hierin samen met het One Health PACT consortium [29], met grootschalige screeningprogramma's voor nieuwe en bekende arbovirussen in migrerende vogels, muggen en teken die kunnen bijdragen aan een uitbraakwaarschuwingssysteem [30]. Data en eventuele signalen van nieuwe introducties worden vervolgens gedeeld met de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA) en het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM) voor waarschuwing en bestrijding.

## Conclusie en toekomst

Momenteel is de differentiële diagnose in arbovirale casuïstiek gebaseerd op het klinische beeld in combinatie met de epidemiologische anamnese (reishistorie, vaccinatiehistorie en eventueel eerder doorgemaakte infecties met arbovirussen) en virologische en serologische laboratoriumdiagnostiek. Door overeenkomende klinische ziektebeelden en antistofkruisreactiviteit zijn infecties met verwante, soms cocirculerende arbovirussen echter moeilijk van elkaar

te onderscheiden, waardoor het lastig kan zijn om een exacte diagnose te stellen. Met een toekomst van steeds meer circulerende arbovirussen in Europa, inclusief Nederland, zal bijbehorende serologische laboratoriumdiagnostiek steeds ingewikkelder worden. De ontwikkeling van meer geavanceerde serologische testen is daarom een prioriteit voor onderzoek, met naast de nadruk op bekende circulerende virussen ook een focus op (nog) opkomende virussen ter voorbereiding op mogelijke uitbraken. Internationale samenwerkingen en netwerken zijn hierbij cruciaal voor een snelle en efficiënte respons wanneer nieuwe virussen en/of virusuitbraken worden gedetecteerd.

## Referenties

1. Cleton N, Koopmans M, Reimerink J, Godeke GJ, Reusken C. Come fly with me: Review of clinically important arboviruses for global travelers. *sJ Clin Virol*. 2012 Nov 1;55(3):191-203.
2. Figueiredo LTM. Human Urban Arboviruses Can Infect Wild Animals and Jump to Sylvatic Maintenance Cycles in South America. *Front Cell Infect Microbiol*. 2019;9:259.
3. Franklins LHV, Jones KE, Redding DW, Abubakar I. The effect of global change on mosquito-borne disease. *Lancet Infect Dis*. 2019;19(9):e302-12.
4. Rijks JM, Kik M, Slaters R, et al. Widespread Usutu virus outbreak in birds in The Netherlands, 2016. *Eurosurveillance*. 2016;21(45):30391.
5. Vlaskamp DRM, Thijsen SFT, Reimerink J, et al. First autochthonous human west nile virus infections in the Netherlands, July to August 2020. *Eurosurveillance*. 2020;25(46):1-4.
6. RIVM. Spread of tick-borne encephalitis virus in the Netherlands | RIVM [Internet]. Available from: <https://www.rivm.nl/en/news/spread-of-tick-borne-encephalitis-virus-in-netherlands>
7. Santiago GA, Vázquez J, Courtney S, et al. Performance of the Trioplex real-time RT-PCR assay for detection of Zika, dengue, and chikungunya viruses. *Nat Commun*. 2018;9(1):1-10.
8. Voermans JJC, Pas SD, Linden A van der, et al. Whole-Blood Testing for Diagnosis of Acute Zika Virus Infections in Routine Diagnostic Setting. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2019;25(7):1394. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/326590769/>
9. Mello C da S, Cabral-Castro MJ, de Faria LCS, Peralta JM, Puccioni-Sohler M. Use of Cerebrospinal Fluid for the Diagnosis of Neuroinvasive Dengue, Zika, and Chikungunya: A 19-year systematic review. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2021;54:2021.
10. Verstrepen BE, Fagrouch Z, van Heteren M, et al. Experimental Infection of Rhesus Macaques and Common Marmosets with a European Strain of West Nile Virus. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(4):e2797.
11. Erra EO, Korhonen EM, Voutilainen L, Huhtamo E, Vapalahti O, Kantele A. Dengue in Travelers: Kinetics of Viremia and NS1 Antigenemia and Their Associations with Clinical Parameters. *PLoS One* [Internet]. 2013;8(6):e65900. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0065900>
12. Nascimento EJM, Huleatt JW, Cordeiro MT, et al. Development of antibody biomarkers of long term and recent dengue virus infections. *J Virol Methods* [Internet]. 2018;257:62-8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29684416/>

13. Cleton NB, Godeke GJ, Reimerink J, et al. Spot the Difference—Development of a Syndrome Based Protein Microarray for Specific Serological Detection of Multiple Flavivirus Infections in Travelers. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(3).
14. Rothman AL. Immunity to dengue virus: a tale of original antigenic sin and tropical cytokine storms. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(8):532-43.
15. Roehrig JT, Hombach J, Barrett ADT. Guidelines for Plaque-Reduction Neutralization Testing of Human Antibodies to Dengue Viruses. *Viral Immunol*. 2008;21(2):123-32.
16. Cleton N, Reusken C, Murk JL, et al. Using routine diagnostic data as a method of surveillance of arboviral infection in travellers: A comparative analysis with a focus on dengue. *Travel Med Infect Dis*. 2014;12(2):159-66.
17. Raulino R, Thaurignac G, Butel C, et al. Multiplex detection of antibodies to Chikungunya, O'nyong-nyong, Zika, Dengue, West Nile and Usutu viruses in diverse non-human primate species from Cameroon and the Democratic Republic of Congo. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15(1):1-20.
18. ECDC. Autochthonous transmission of chikungunya virus in mainland EU/EEA, 2007–present [Internet]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/all-topics-z/chikungunya-virus-disease/surveillance-threats-and-outbreaks/autochthonous>
19. ECDC. Autochthonous transmission of dengue virus in mainland EU/EEA, 2010-present [Internet]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/all-topics-z/dengue/surveillance-and-disease-data/autochthonous-transmission-dengue-virus-eueea>.
20. ECDC. Zika virus disease in Var department, France. 2019.
21. ECDC. Factsheet about Crimean-Congo haemorrhagic fever [Internet]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/crimean-congo-haemorrhagic-fever/facts/factsheet>.
22. ECDC. Weekly updates: 2022 West Nile virus transmission season [Internet]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/west-nile-fever/surveillance-and-disease-data/disease-data-ecdc>.
23. Hesson JC, Rettich F, Merdić E, et al. The arbovirus vector *Culex torrentium* is more prevalent than *Culex pipiens* in northern and central Europe. *Med Vet Entomol*. 2014;28(2):179-86.
24. Esser HJ, Liefing Y, Ibáñez-Justicia A, et al. Spatial risk analysis for the introduction and circulation of six arboviruses in the Netherlands. *Parasit Vectors*. 2020;13(1):1-20.
25. Uiterwijk M, Ibáñez A, van den Vossenberg B, et al. Imported Hyalomma Ticks in The Netherlands 2018-2020. *Parasit Vectors*. 2021;14(1):244.
26. Ibáñez-Justicia A, Alcaraz-Hernández JD, van Lammeren R, et al. Habitat suitability modelling to assess the introductions of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in the Netherlands. *Parasit Vectors* [Internet]. 2020;13(1):1-13. Available from: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-020-04077-3>.
27. Berneck BS, Rockstroh A, Barzon L, et al. Serological differentiation of West Nile virus- and Usutu virus-induced antibodies by envelope proteins with modified cross-reactive epitopes. *Transbound Emerg Dis*. 2022;69(5):2779-87.
28. Kleber De Oliveira W, Vinícius G, De França A, et al. Infection-related microcephaly after the 2015 and 2016 Zika virus outbreaks in Brazil: a surveillance-based analysis. *The Lancet*. 2017;390:861-70.
29. Home - One Health PACT [Internet]. Available from: <https://www.onehealthpact.org/>.
30. Sikkema RS, Schrama M, Van Den Berg T, et al. Detection of West Nile virus in a common whitethroat (*Curruca communis*) and *Culex* mosquitoes in the Netherlands, 2020. *Eurosurveillance*. 2020;25(40):1-6

# Serologie in de diagnose van enterovirusgerelateerde ziekte

Karen Couderé, Katja Wolthers, Jean-Luc Murk

## Samenvatting

Serologie biedt een meerwaarde bij complicaties als gevolg van late non-polio enterovirusinfectie, wanneer het virus niet (meer) direct aantoonbaar is. Verschillende targets en technieken bestaan voor de detectie van antistoffen, onder meer 'enzyme linked immunosorbent' assays. In het geval van centraal-zenuwstelselinfecties dient een liquorserum-antistof-index bepaald te worden. Ondanks de uitdaging van kruisreagerende antistoffen worden multiplexsystemen steeds meer onderzocht en toegepast.

## Abstract

Serology can provide additional value in the case of non-polio enterovirus infection associated complications. Different targets and techniques exist for the measurement of antibodies, including enzyme-linked immunosorbent assays. When central nervous system infections occur intrathecal antibody production should be determined. Despite the main challenge of cross-reacting antibodies, multiplex systems are increasingly applied.

## Introductie

Enterovirussen (EV) zijn een zeer frequente oorzaak van infecties, vooral bij kinderen en in mindere mate volwassenen. Het klinische beeld is in de meerderheid van de gevallen mild en beperkt tot koorts en aspecifieke verschijnselen. Tot het klinisch spectrum behoren echter ook ernstig verloopende infecties zoals neonatale sepsis, myocarditis en neurologische complicaties. De diagnose wordt in Nederland gesteld met behulp van PCR. Deze methode is echter niet afdoende bij late complicaties zoals myocarditis, acute slappe verlamming (AFM of acute flaccid myelitis) en encefalitis. Hoewel EV-serologie sinds de opkomst van de moleculaire diagnostiek het imago heeft van aspecifiek en weinig zinvol te zijn, bieden serologische assays hier een bijzondere meerwaarde. Met dit artikel willen wij een overzicht bieden van een aantal

beschikbare serologische technieken en hun voordelen en beperkingen ten opzichte van elkaar en andere diagnostische methodes.

## Classificatie en associatie met ziektebeelden

Enterovirussen behoren tot het genus Enterovirus van de Picornaviridae-familie, de grootste familie van RNA-virussen. Hun nomenclatuur scheidt regelmatig verwarring en veranderde grondig met de introductie van genotypering waarna de coxsackievirus A (CVA), -B (CVB), echovirussen (E) en poliovirus (PV) 1-3, op basis van sequentiehomologie en fylogenetische eigenschappen werden gehergroepeerd onder de vier EV-species, Enterovirus (EV-) A, B, C en D (*tabel 1*). Vanaf dat moment kregen alle nieuw ontdekte EV-types een genummerde EV-naam, gebaseerd op het species waartoe ze behoren en de opeenvolging van ontdekking, beginnend vanaf EV-D68. Wanneer men over non-polio enterovirussen (NPEV) spreekt bedoelt men alle EV behalve wildtype- en vaccin-PV.

Ondertussen zijn er meer dan 110 NPEV-types bekend. Hun circulatie is complex, en afhankelijk van het type is er een twee-, meerjaarlijkse of meer irreguliere toename van het aantal infecties.

De verschillende NPEV-types zijn geassocieerd met verschillende ziektebeelden (*tabel 2, pagina 26*). Dit kan echter variëren in de tijd omdat er soms veranderingen in circulatie en pathogeniciteit ontstaan. Types behorend tot EV-B, het species waartoe de meeste types behoren, veroorzaken meningitis,

Laboratorium voor Medische microbiologie en Immunologie, Microvida, Elisabeth TweeSteden Ziekenhuis, Tilburg, drs.K. Couderé, aios medische microbiologie, dr. J. Murk, arts-microbioloog.  
Amsterdam UMC, Locatie AMC, Amsterdam, afdeling Medische Microbiologie en Infectiepreventie, OrganoVIR Labs, dr. C. Wolthers, arts-microbioloog/viroloog.  
Correspondentieadres: drs. K. Couderé  
(k.coudere@etz.nl).

myocarditis en neonatale sepsis. EV-A types zijn dan weer klassiek geassocieerd met hand-voet-mondziekte (HFMD of hand foot mouth disease). In geval van EV-A71 kan dit gecompliceerd worden door (hersenslam)encefalitis [1]. Van de meeste EV-C-types (behalve PV1-3, CVA21, CVA24) is de associatie met ziekte grotendeels onbekend. Het meest beruchte EV-D-type, EV-D68, kent sinds 2010 een tweejaarlijkse toename met uitbraken van ernstige respiratoire ziekte en acute slappe verlamming (AFM of acute flaccid myelitis) in Europa en de Verenigde Staten [2,3] (een complicatie die voor de introductie van poliovacinatie voornamelijk door PV-types werd veroorzaakt). Voor EV-A-, -B- en -C-species is er bovendien, in toenemende mate, bewijs voor een associatie met diabetes mellitus type 1 (DM1) [4,5].

### Directe diagnostiek

Vóór de introductie van moleculaire diagnostiek was men aangewezen op het kweken van klinische materialen op cellijnen gevolgd door serotypering op basis van EV-antilichaampools [6]. Tegenwoordig

wordt in Nederland en andere westerse landen de diagnose meestal gesteld met RT-PCR, gericht op het geconserveerde 5'Untranslated region (5'UTR) [7], en typering via de basenvolgorde van het Viral capsid Protein (VP)-1 [8]. Diagnostische materialen zijn veelal liquor-, faeces- of keeluitstrijk, maar ook bloed of blaasjesvocht [9]. Het virus blijft het langste aantoonbaar in faeces. Niet-enterotrope NPEV-types, zoals EV-D68, zijn hierin echter zelden aantoonbaar (figuur 1).

### De voordelen van serologische diagnostiek

Een indirecte methode voor het stellen van de diagnose van NPEV-infecties is het aantonen van een antistofrespons. De humorale respons speelt een belangrijke rol in het overwinnen van NPEV-infecties. Het opkomen van een IgM-respons treedt vroeg en binnen drie tot acht dagen op en kan tot twee maanden aanwezig blijven (over het algemeen niet langer dan zes maanden) [10,11]. Dit is in tegenstelling tot de viremische fase, die hoogstens een aantal dagen duurt (figuur 1). De neutraliserende antistoffen (nAS) blijven

**Tabel 1.** Classificatie van NPEV en de associatie met ziektebeelden.

Species	Types	Ziektebeelden	
Enterovirus A	CVA2-8, CVA10, CVA12, CVA14, CVA16	CVA6, CVA16, EV-A71	HFMD
	EV-A71, EV-A76, EV-A89-92, EV-A114, EV-A119-121	EV-A71	Encefalitis
		EV-A71, CVA7	AFM
Enterovirus B	CVA9, CVB1-6	CVB, E11	neonatale sepsis (hepatitis en myocarditis)
	E1-9, E11-21, E24-27, E29-33	CVB	myocarditis
	EV-B69, EB73-75, EV-B77-88, EVB-93, EV-B97-98, EV-B100-101, EV-B106-107, EV-B110-110	Echovirussen CVB, echovirussen	meningitis pleurodynie
Enterovirus C	PV-1-3	PV-1-3	AFM
	CVA1, CVA11, CVA13, CVA17, CVA19-22, CVA24	CVA21, CVA24	respiratoire ziekte
	EV-C95-96, EV-C99, EV-C102, EV-C104-105, EV-C109, EV-C113, EV-C116-118	CVA24 Overige	hemorragische conjunctivitis ziekteassociatie grotendeels onbekend
Enterovirus D	EV-D68, EV-D70, EV-D94, EV-D111	EV-D68	ernstige respiratoire ziekte, AFM
		EV-D70	hemorragische conjunctivitis



langdurig (jaren) aanwezig. Antistoffen zijn hoofdzakelijk gericht tegen de drie externe structurele capsid-eiwitten VP1, VP2 en VP3, waarvan VP1 de meeste sequentievariatie en neutraliserende epitopen bevat. Behalve typespecifieke epitopen bevat VP1 ook een belangrijke pan-EV-immunodominante site ter hoogte van de N-terminale regio [12,13]. Recent rapporteerden verschillende onderzoeksgroepen over de niet-structurele 2A- and 3C-proteasen als IgG-target [14,15]. Deze respons is van korte duur en kan als marker voor acute infecties dienen.

De kracht van serologische assays is het diagnosticeren van later optredende complicaties zoals onder andere myocarditis, DM1, AFM en (hersenstam)encefalitis. Bij deze ziektebeelden is het virus vaak niet (meer) direct aantoonbaar of slechts aantoonbaar in niet-steriel respiratoir materiaal of feces. Bij AFM, een gevreesde complicatie van EV-D68 infecties, wordt het virus zelden of nooit aangetoond in de liquor en in minder dan de helft van de gevallen in niet-steriel respiratoir materiaal [16]. Tekenen van AFM starten gemiddeld pas vanaf vijf tot zeven dagen na de eerste symptomen en de aanwezigheid van dit niet-enterotrope virus in respiratoir materiaal, bloed of liquor is vaak van korte duur [16]. Ook bij encefalitis, als gevolg van een EV-A71-infectie, wordt het virus vaak niet meer in de liquor aangetoond. Een centraal-zenuwstelselinfectie kan in deze gevallen aangetoond

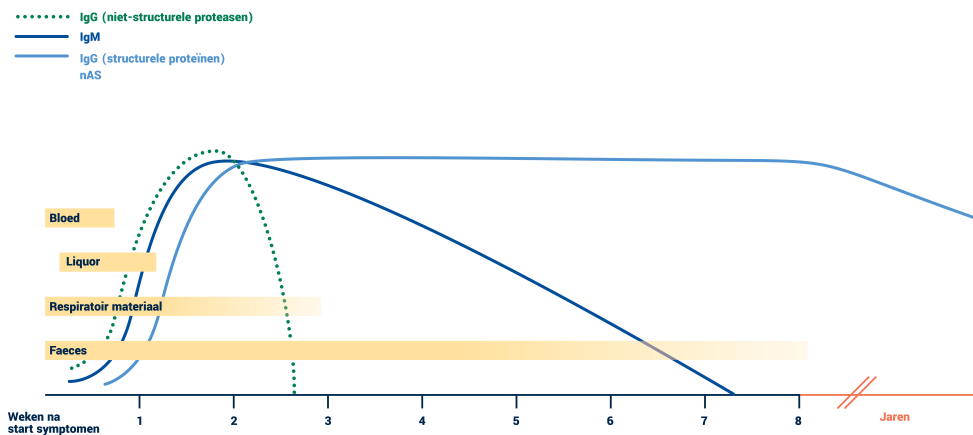
worden via intrathecale antistofsynthese door het berekenen van een antistofindex tussen liquor en serum. Verschillende studies rapporteerden dat het aantonen hiervan de diagnostische sensitiviteit aanzienlijk kan verhogen [1,17].

## Serologische technieken

### Neutralisatieassays

De gouden standaard voor het bepalen van antistoffen tegen NPEV is de op het cytopathogeen effect (CPE) gebaseerde virusneutralisatieassay (VNA) of de plaquereductie-neutralisatieassay (PRNA). Aangezien de initiële classificatie van EV gebaseerd was op serotypering, waarbij de neutraliserende antistoffen (nAS) tegen een bepaald type geen andere types konden neutraliseren, worden nAS in principe als (sero)typespecifiek beschouwd. De VNA is echter bewerkelijk, heeft een lange incubatieduur (vijf tot zeven dagen) en vergt de beschikbaarheid van voldoende materiaal. Voor het bepalen van nAS tegen verschillende NPEV-types moeten immers al de individuele types in kwestie gekweekt en al dan niet geneutraliseerd worden. Recent werd een aantal alternatieven voor het meten van nAS ontwikkeld zoals de pseudovirusluciferase-assay (PVLA) en de neutralisatie-'enzyme linkt immunospot' (ELISPOT). Bij deze assays hoeft niet gewacht te worden op CPE

**Figuur 1.** Tijdsframe RNA-detectie in klinische materialen en kinetiek antistofrespons



maar correleert een afname van het signaal door luciferase- of VP1-gekoppelde monoclonale antistoffen, met de inhibitie van virale invasie door nAS [18-20]. De kortere incubatieduur (minder dan 24 uur) en een automatische aflezing van het signaal maken deze assays geschikt als methodes met hoge doorloop snelheid. Deze assays werden echter ontwikkeld voor een beperkt aantal types (onder andere EV-A71, CVB3, CVB5) (19-22).

### Complementbindingsreactie (CBR)

Een in het verleden vaker gebruikte techniek is de complementbindingsreactie (CBR). Deze techniek is minder gevoelig en minder specifiek dan de huidige 'enzyme linked immunosorbent' assays (ELISA) [23]. Daarenboven is er om een acute infectie aan te tonen een viervoudige titer stijging vereist. Hierdoor kan de diagnose pas laat gesteld kan worden. Daarenboven is er voor deze en in-house ontwikkelde testen geen plaats meer met de beschikbaarheid van In Vitro Diagnostics Regulation (IVDR) CE-gecertificeerde assays.

### Commerciële 'enzyme linked immunosorbent' assays (ELISA)

Verscheidende commerciële ELISA's zijn beschikbaar voor het meten van IgM, IgG en IgA tegen EV (*tabel 2, pagina 26*). De uitvoer vergt geen bijzonder materiaal of bijzondere expertise, wat deze technieken toegankelijk maakt. De targets bestaan uit een mix van recombinante of gedenatureerde EV-antigenen waardoor ze antistoffen kunnen aantonen tegen verschillende types. De Serion ELISA is een kwantitatieve assay gevalideerd voor serum en liquor, die de mogelijkheid biedt voor het bepalen van een antistofindex [24]. Met geen van deze assays kan echter een onderscheid gemaakt worden tussen de EV-typen waartegen de antistoffen gevormd zijn. Ondanks dat kruisreactiviteit tegen PV en andere EV die niet als target in de assay zijn opgenomen, niet uit te sluiten is, tonen deze commerciële ELISA's een hoge specificiteit. Dit maakt kruisreactiviteit door polio-vaccinatie geïnduceerde antistoffen minder waarschijnlijk. Bij twijfel kunnen IgM en IgA helpen bij de interpretatie van het resultaat.

Voor de IgM-bepalingen is ook kruisreactiviteit door andere verwekkers beschreven (onder meer voor EBV-VCA, *Borrelia*, TBEV, bof). Daarnaast is de sensitiviteit

van de assays voor alle individuele EV-types onvoldoende bekend.

## Recente ontwikkelingen met behulp van multiplexassays

Multiplexmethodes kunnen mogelijk een uitweg bieden uit de beperkingen van serologische assays die geen specifiek NPEV-types kunnen aanduiden. Recent rapporteerden Mishra et al. over het bepalen van intrathecale antistoffen aan de hand van een zelfontwikkelde peptide microarray 'AFM-serochip', die de vier capsid-eiwitten (VP1, VP2, VP3, en VP4) van alle humane EV omvatten. Met deze techniek kon bij 80 procent van de geïncubeerde AFM-casussen intrathecale AS-synthese tegen EV-D68 worden aangetoond [25]. Een andere techniek waarbij een grote hoeveelheid virale peptidetargets gecombineerd kan worden, is Virscan [1,17]. Deze techniek maakt gebruik van expressie van peptiden door DNA-gecodeerde bacteriofagen. Bacteriofagen waaraan antilichamen binden worden gescheiden en hun DNA-code wordt bepaald, waarna een vergelijking met een virale peptidedatabase kan worden gemaakt. Hoewel deze technieken werden toegepast in liquor, werden er geen antistofindexen bepaald die rekening houden met bloed-hersenbarrière-disfunctie.

Ook werden er proteïnegebaseerde multiplexassays ontwikkeld. Saarinen et al. maakten via het flexibele MSD U-PLEX-systeem gebruik van VP1-proteïnen van ieder EV-species (CVA-4, CVB1, PV1, EV-D68) naast 2A- en 3C-proteïnen, als marker voor acute infectie. Hierbij vonden ze een significant hogere antistofrespons tegen 2A bij IgM-positieve vs. IgM-negatieve volwassenen. De verschillende VP1-proteïnen vertoonden echter een hoge mate aan kruisreactiviteit bij volwassenen [26]. Ook andere flexibele multiplexplatformen zouden zich kunnen lenen voor EV-serologie, zoals de Luminex xMAP-technologie (eigen data, nog niet gepubliceerd).

## Uitdagingen serologische technieken

Op dit moment zijn er geen commerciële NPEV-typespecifieke assays in Europa beschikbaar. Het kunnen aanduiden van een type heeft aanvullende waarde vanwege de associatie tussen bepaalde types en ziektebeelden. Dit kan de betrokkenheid van een NPEV bij het zich presenterende ziektebeeld meer of

**Tabel 2.** Overzicht van CE-gecertificeerde commerciële EV-ELISA's.

Producent en naam assay	Antigeentype	Gebruikte EV-types voor assay-ontwikkeling	Te detecteren EV-types volgens voorschrift	Ig-isotypes	Kwantitatief	Patiënt-materiaal	Volume
Serion ELISA classic Enterovirus	Mix van recombinante antigenen van geconserveerde en subtype-specifieke VP1-epitopen	E6 E9 CVB1, -3 en -5	Alle EV-serotypes	IgM IgA IgG	Ja	Serum en liquor	100 µL
Serion ELISA classic Echovirus	Mix	E6 E9	Alle echoserotypes	IgM IgA IgG	Ja	Serum en liquor	100 µL
Serion ELISA classic Coxsackievirus	Mix	CVB1, -3 en -5	Alle coxsackie-serotypes	IgM IgA IgG	Ja	Serum en liquor	100 µL
Virotech Enterovirus ELISA	Hittegedenatureerde antigenen	CVB5 E24	Ten minste CVA9, CVA16, CVB2, CVB4, E5, E11, E15, E17, E22, E23, E25, E33	IgM IgA IgG	Semi-kwantitatief	Serum	10 µL
Euroimmune anti-Enterovirus ELISA	Recombinant VP1	Niet gespecificeerd (coxsackie- en echovirussen)	Coxsackie- en echovirussen	IgM IgA IgG	Semi-kwantitatief	Serum en plasma (EDTA of heparine)	10 µL

minder waarschijnlijk maken. Bovendien is het in het kader van surveillance nuttig om te weten om welk type het gaat. Het ontwikkelen van typespecifieke multiplexassays wordt bemoeilijkt door het feit dat er bij een NPEV-infectie niet alleen homotypische antistoffen maar ook kruisreagerende heterotypische antistoffen worden gevormd tegen zogeheten *common enterovirus cross-reactive sequences* (CERCS) [12,13]. De neutraliserende typespecifieke epitopen werden al voor verschillende EV-types uitgezocht (onder meer voor EV-A71, EV-D68, CVA16) maar met de meer dan 100 verschillende NPEV-types blijft dit een enorme uitdaging. Bovendien zijn sommige van deze epitopen conformationeel: ze komen niet terug in serologische assays gebaseerd op lineaire peptiden. Er lijken ook verschillen te bestaan tussen de

antistofrespons van kinderen en volwassenen, waarbij de antistofrespons van volwassenen, vanwege de veelvuldige blootstelling aan EV, uit meer kruisreagerende en vroeger optredende antistoffen bestaat [5,26].

Hierdoor kan gemakkelijker een bepaald type aangeduid worden, maar dit heeft als nadeel dat, wanneer niet alle types zijn geïncludeerd in de assay, de sensitiviteit lager is. Een bijkomende belangrijke uitdaging is om tijdig aan het uitvoeren van EV-serologie te denken. Voornamelijk bij neurologische complicaties - waarbij er differentiaaldiagnostisch ook aan auto-immuunziekten wordt gedacht - bestaat het risico dat het toedienen van IVIG of plasmaferese de interpretatie van de daaropvolgende serologische diagnostiek onmogelijk maakt. Omdat IVIG nAS tegen

de meest voorkomende EV-types bevat, kan dit leiden tot een foutpositieve uitslag [27].

## Conclusie en aanbevelingen

Bij late NPEV-complicaties, zoals myocarditis, AFM en encefalitis, kunnen serologische technieken de diagnostische sensitiviteit verhogen. Commerciële ELISA's, voornamelijk gericht tegen coxsackie- en echovirussen, zijn beschikbaar. Het is belangrijk om de mogelijkheid van een NPEV-infectie in het achterhoofd te houden en de serologische diagnostiek zo spoedig mogelijk in te zetten, voor het toedienen van IVIG. Bij neurologische complicaties kan een liquorserum-antistofindex bepaald worden. Deze diagnostiek vindt plaats in het Erasmus MC (Diagnostisch Vademecum Infectieziekten tabel). Vanwege de associatie tussen bepaalde EV-types en ziektebeelden zoals AFM, encefalitis en myocarditis, is er behoefte aan technieken die met een hogere sensitiviteit specifieke NPEV-types kunnen aanduiden. Omdat genen evolueren en hun circulatie en ziekteverwekkend vermogen voortdurend veranderen, kunnen flexibele multiplexplatforms hier een oplossing bieden.

## Referenties

1. Leon KE, Schubert RD, Casas-Alba D, et al. Genomic and serologic characterization of enterovirus A71 brainstem encephalitis. *Neuro Immunol Neuroinflamm.* 2020;7(3).
2. Midgley CM, Watson JT, Nix WA, et al. Severe respiratory illness associated with a nationwide outbreak of enterovirus D68 in the USA (2014): a descriptive epidemiological investigation. *Lancet Respir Med.* 2015;3(11):879-87.
3. Meijer A, van der Sanden S, Snijders BE, et al. Emergence and epidemic occurrence of enterovirus 68 respiratory infections in The Netherlands in 2010. *Virology.* 2012;423(1):49-57.
4. Yeung WC, Rawlinson WD, Craig ME. Enterovirus infection and type 1 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis of observational molecular studies. *BMJ.* 2011;342:d35.
5. King ML, Shaikh A, Bidwell D, Voller A, Banatvala JE. Coxsackie-B-virus-specific IgM responses in children with insulin-dependent (juvenile-onset; type I) diabetes mellitus. *Lancet.* 1983;1(8339):1397-9.
6. Duizer E BK, Uslu G, Jusic E, et al. Verleden, heden en toekomst van de enterovirus- en parechovirusdiagnostiek en -surveillance in Nederland. *NTMM.* 2013;21(2):6.
7. Nijhuis M, van Maarseveen N, Schuurman R, et al. Rapid and sensitive routine detection of all members of the genus enterovirus in different clinical specimens by real-time PCR. *J Clin Microbiol.* 2002;40(10):3666-70.
8. Nix WA, Oberste MS, Pallansch MA. Sensitive, seminested PCR amplification of VP1 sequences for direct identification of all enterovirus serotypes from original clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 2006;44(8):2698-704.
9. Harvala H, Broberg E, Benschop K, et al. Recommendations for enterovirus diagnostics and characterisation within and beyond Europe. *J Clin Virol.* 2018;101:11-7.
10. Yu N, Guo M, He SJ, et al. Evaluation of human enterovirus 71 and coxsackievirus A16 specific immunoglobulin M antibodies for diagnosis of hand-foot-and-mouth disease. *Virology.* 2012;9:12.
11. Aw-Yong KL, Sam IC, Koh MT, Chan YF. Immunodominant IgM and IgG Epitopes Recognized by Antibodies Induced in Enterovirus A71-Associated Hand, Foot and Mouth Disease Patients. *PLoS One.* 2016;11(11):e0165659.
12. Samuelson A, Forsgren M, Sallberg M. Characterization of the recognition site and diagnostic potential of an enterovirus group-reactive monoclonal antibody. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1995;2(3):385-6.
13. Ding Y, Wang Z, Zhang X, et al. Different Antibody Response against the Coxsackievirus A16 VP1 Capsid Protein: Specific or Non-Specific. *PLoS One.* 2016;11(9):e0162820.
14. Saarinen NVV, Stone VM, Hankaniemi MM, et al. Antibody Responses against Enterovirus Proteases are Potential Markers for an Acute Infection. *Viruses.* 2020;12(1).
15. Chen X, Qin B, Shi M, et al. Immunoreactivity Analysis of the Nonstructural Proteins of Human Enterovirus 71. *Viral Immunol.* 2017;30(2):106-10.
16. Greninger AL, Naccache SN, Messacar K, et al. A novel outbreak enterovirus D68 strain associated with acute flaccid myelitis cases in the USA (2012-14): a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2015;15(6):671-82.
17. Schubert RD, Hawes IA, Ramachandran PS, et al. Pan-viral serology implicates enteroviruses in acute flaccid myelitis. *Nat Med.* 2019;25(11):1748-52.
18. Wu X, Mao Q, Yao X, et al. Development and evaluation of a pseudovirus-luciferase assay for rapid and quantitative detection of neutralizing antibodies against enterovirus 71. *PLoS One.* 2013;8(6):e64116.
19. Yang L, He D, Tang M, et al. Development of an enzyme-linked immunosorbent spot assay to measure serum-neutralizing antibodies against coxsackievirus B3. *Clin Vaccine Immunol.* 2014;21(3):312-20.
20. Zhang H, An D, Liu W, et al. Analysis of cross-reactive neutralizing antibodies in human HFMD serum with an EV71 pseudovirus-based assay. *PLoS One.* 2014;9(6):e100545.
21. Chen P, Wu X, Mao Q, et al. A rapid and quantitative assay for measuring neutralizing antibodies of Coxsackievirus B3. *J Virol Methods.* 2016;232:1-7.
22. Chen P, Wu X, Su Y, Hao X, Mao Q, Liang Z. Development of a pseudovirus based assay for measuring neutralizing antibodies against coxsackievirus B5. *J Virol Methods.* 2017;246:21-6.
23. Terletskaja-Ladwig E, Metzger C, Schallasta G, Enders G. Evaluation of enterovirus serological tests IgM-EIA and complement fixation in patients with meningitis, confirmed by detection of enteroviral RNA by RT-PCR in cerebrospinal fluid. *Journal of medical virology.* 2000;61(2):221-7.
24. Sooksawasdi Na Ayudhya SSGJ, Bogers S, Leijten LME, et al. Detection of intrathecal antibodies to diagnose enterovirus infections of the central nervous system. *J Clin Virol.* 2022(152).
25. Mishra N, Ng TFF, Marine RL, et al. Antibodies to Enteroviruses in Cerebrospinal Fluid of Patients with Acute Flaccid Myelitis. *mBio.* 2019;10(4).
26. Saarinen NVV, Lehtonen J, Veijola R, et al. Multiplexed High-Throughput Serological Assay for Human Enteroviruses. *Microorganisms.* 2020;8(6).
27. Coudere K, van der Straten K, Brouwer L, et al. Neutralising Antibodies against Enterovirus and Parechovirus in IVIG Reflect General Circulation: A Tool for Sero-Surveillance. *Viruses.* 2021;13(6).

# SIG-BIMM, een nieuw netwerk binnen de medische microbiologie in Nederland

Ellen Carbo

Zowel next-generation sequencing (NGS) als bioinformatica is inmiddels niet meer weg te denken in de medische microbiologie. In 2018 hebben de bioinformatici Judy Fonville (voormalig PAMM) en Anita Schürch (UMCU) een Special Interest Group Bioinformatics In Medical Microbiology (SIG-BIMM) opgericht. Het doel was een kennisnetwerk te vormen ter verbetering van een gezamenlijk werkveld, in dit geval de (medische) microbiologie in Nederland.

Al snel werden Jordy Coolen (Radboud) en Sébastien Matamoros (AUMC) bij de coördinatie betrokken, gevolgd door Ellen Carbo (AUMC), die als enige nog een actieve coördinator is. Onlangs zijn Boas van der Putten (RIVM) en Casper Jamin (MUMC+) hierbij aangesloten als coördinator.

Omdat binnen de moleculaire diagnostiek steeds meer NGS-technieken worden toegepast waarbij data moeten worden verwerkt, zijn we als bioinformatici van belang. Inmiddels zijn we dan ook officieel onderdeel van de Werkgroep Moleculaire Diagnostiek (WMDI) van de NVMM.

## Bioinformatica

Bioinformatica is een relatief nieuw vakgebied, waarbij informatica gebruikt om biologische en genetische vraagstukken op te lossen. Vooral nu we in de biomedische wereld veel meer gebruikmaken van NGS om DNA of RNA van verschillende organismen in kaart te brengen, levert dit grote hoeveelheden data op, die op een juiste manier verwerkt moeten worden. Enkele voorbeelden zijn de kiemsurveillance waarbij het genoom van onder andere SARS-CoV-2-virussen in kaart wordt gebracht door ruwe data na het laboratoriumproces tot de juiste RNA-sequentie te verwerken. Dit kan ook voor andere pathogenen, waarbij soms zelfs een persoonlijk contact tussen patiënten in kaart kan worden gebracht. Een ander voorbeeld is het bepalen van mutaties van bacteriën die leiden tot ontwikkeling van resistentie tegen

antimicrobiële stoffen.

De doelstelling die wij als SIG-BIMM hebben, is om kennis met en tussen onze leden/volgers te delen over het gebruik, de interpretatie en de ontwikkeling van software. Zoals kennis over verschillende laboratoriumtechnieken wordt uitgewisseld tussen verschillende centra en tussen laboratorium en kliniek, zo is het ook van belang om dit te doen voor het toepassen van software en het interpreteren en visualiseren van data.

Accurate toepassing van geschikte software zal leiden tot betrouwbare resultaten voor onderzoek en diagnostiek. Een voorbeeld is de juiste instellingen en verslaglegging van softwareversies. Daarnaast willen wij graag het bewustzijn rond bioinformatica in de medische microbiologie bevorderen.

Gekscherend wordt er nog weleens gedacht dat je een data-analyse van miljoenen stukjes DNA of RNA-sequenties kunt oplossen door een bioinformaticus op 'Enter' te laten drukken. Aan een analyse gaat echter vaak een ingewikkeld proces vooraf: het selecteren van verschillende softwareprogramma's, en deze in de juiste volgorde en met de juiste instellingen achter elkaar plaatsen. Binnen veel centra worden hiervoor supercomputers gebruikt, die de snelheid van data-analyse bevorderen maar die wel logistiek inzicht vragen van eventuele gebruikers en waarbij er minstens kleine stukjes code moeten worden geschreven in programmeertaal, om de supercomputer te vertellen wat moet worden uitgevoerd. Net als laboratoriumtechnieken moeten ook softwareprogramma's een validatie ondergaan, en dienen

Amsterdam UMC, afdeling Medische Microbiologie & Infectiepreventie, E.C. Carbo.  
Correspondentieadres: e.c.carbo@amsterdamumc.nl



personen te worden opgeleid die vervolgens dit proces kunnen starten en eventuele problemen kunnen waarnemen tijdens het proces.

De SIG-BIMM komt minstens twee keer per jaar bij elkaar, live of online. Onderwerpen die we in het verleden besproken hebben, zijn implementatie van data-analyse binnen de diagnostiek, het sequencen van SARS-CoV-2 en genetische epidemiologie van infectieziekten. Bij onze bijeenkomsten proberen we ook altijd ruimte te geven aan een discussie, aangezien veel van onze leden vaak tegen dezelfde punten aanlopen. Naast de bijeenkomsten hebben we een ledenlijst zodat we elkaar onderling vragen of tips kunnen sturen. In het verleden hebben we een 'whole genome sequencing (WGS)'-benchmark georganiseerd voor het juist typeren van vancomycine-resistente *Enterococcus faecium* en *Klebsiella pneumoniae*. We bieden ook ondersteuning bij ingewikkelde vraagstukken over NGS-analyses. Onlangs zijn we als SIG-coördinatoren betrokken

geweest bij de technische werkgroep van SeqNeth, voor onder andere onderwijs en het gebruik van kwaliteitscriteria bij het delen van SARS-CoV-2-sequenties voor de landelijke kiemsurveillance.

Schroom in ieder geval niet contact met ons op te nemen over vraagstukken rond bioinformatische data-analyses. En ken je toevallig iemand die nog niet bij ons is aangesloten maar wel als bioinformaticus of data-analist werkzaam is, laat deze persoon zich dan aansluiten bij onze special interest group.

Registratie voor onze groep kan door een e-mail te sturen aan een van de coördinatoren (e-mailadressen in het onderstaande kader). Iedereen die binnen de (medische) microbiologie werkt aan de interpretatie of analyse van NGS-data, moedigen wij aan lid te worden. Voor het bijwonen van onze bijeenkomsten adviseren wij om geregistreerd NVMM-lid te zijn.

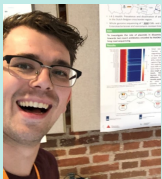
## De coördinatoren van de SIG-BIMM



**Ellen Carbo** (Amsterdam UMC),  
e.c.carbo@amsterdamumc.nl



**Boas van der Putten** (RIVM),  
boas.van.der.putten@rivm.nl



**Casper Jamin** (MUMC+),  
casper.jamin@mumc.nl

# Preventieve screening bij patiënten zonder bekend COVID-19-risico

Corianne Meijer, Alma Tostmann, Marije Stoffer, Rob Timmers, Lianne Gommers, Vera du Buf, Matthew McCall, Heiman Wertheim, Chantal Rovers, Edmée Bowles

## Samenvatting

Het Radboudumc volgt het landelijke COVID-19-test- en isolatiebeleid. Door de opkomst van de SARS-CoV-2-omikronvariant eind 2021, die gemakkelijker overdraagbaar is dan zijn voorgangers, en berichten uit het Verenigd Koninkrijk over nosocomiale verspreiding, is besloten om het testbeleid uit te breiden. Via een pilotstudie zijn vanaf januari tot en met april 2022 alle opgenomen patiënten preventief getest op SARS-CoV-2.

De preventieve SARS-CoV-2-screening was opgezet als project. De screening werd afgenomen op de dag van opname. Een positieve uitslag werd beoordeeld door een microbioloog met aandachtsgebied virologie en indien beschouwd als potentieel besmettelijk, volgde isolatie en eventueel een contactonderzoek. De resultaten werden wekelijks samengevat en besproken in het projectteam.

Vanaf 6 januari tot 18 april 2022 zijn 4.544 preventieve SARS-CoV-2-testen afgenomen bij patiënten zonder bekend COVID-19-risico. In 272 gevallen (5,9 procent) was de uitslag positief, waarvan 125 patiënten (2,8 procent) beoordeeld zijn als potentieel besmettelijk. In 77 gevallen is een contactonderzoek opgestart en negen contactpatiënten (4,5 procent) hebben COVID-19 ontwikkeld. Van de besmettelijke patiënten heeft 47 procent geen COVID-19-symptomen ontwikkeld.

Het preventief testen van alle opgenomen patiënten van januari tot en met april 2022 heeft bijgedragen aan het voorkómen van SARS-CoV-2-uitbraken in het Radboudumc. Gezien de inspanning en de bijbehorende kosten is het echter belangrijk de te verwachten kosten en baten goed af te wegen. De ervaringen in deze pilot zijn bruikbaar in de context van pandemische paraatheid, zeker in het geval van een volgende pandemie met een respiratoir virus.

## Abstract

In the Radboudumc hospitalized patients are tested for SARS-CoV-2 upon symptoms suggestive of COVID-19 or following a recent risk exposure. Awaiting the result, isolation precautions are in place. Given high transmissibility of the omicron variant and reports of nosocomial outbreaks in the UK in December 2021, we extended SARS-CoV-2 screening to all admitted patients without COVID-19 symptoms.

The pilot was addressed as project, SARS-CoV-2 PCR-tests were taken on the hospital admission day. Positive results were interpreted by the clinical microbiologist and when considered as infectious, isolation precaution and contact investigation were executed. Results were weekly summarized and discussed within the project team.

In total, 4.544 preventive SARS-CoV-2 PCR-tests were

Radboudumc, Nijmegen, Centrum voor Infectieziekten, afdeling Medische Microbiologie, drs. C. Meijer, deskundige infectiepreventie, dr. A. Tostmann, epidemioloog en plv. hoofd unit infectiepreventie, dr. M.B. McCall, arts-microbioloog, prof. dr. H.F.L. Wertheim, hoogleraar Klinische microbiologie en afdelingshoofd, drs. E.C. Bowles, arts-microbioloog en hoofd unit infectiepreventie; afdeling Procesverbetering en Implementatie (PVI), drs. M. Stoffer, manager PVI, drs. R.J.M. Timmers, adviseur PVI, dr. L.M.M. Gommers, adviseur PVI, V. du Buf, student geneeskunde; afdeling Interne Geneeskunde, sectie infectieziekten, prof. dr. C.P. Rovers, hoogleraar Uitbraken van infectieziekten en internist-infectioloog.  
Correspondentieadres: drs. C. Meijer, (corianne.meijer@radboudumc.nl).

conducted, 272 (5.9 percent) were positive of which 125 (2.8 percent) were considered as infectious. Contact investigation was indicated 77 times and included 201 patients of whom 9 developed COVID-19 (4.5 percent). In 192 cases SARS-CoV-2 infection was prevented. Of the 125 infectious patients, 47 percent did not develop symptoms within 5 days after the positive test, suggesting they would have been missed if preventive screening was not in place.

Due to the preventive SARS-CoV-2 screening from January until April 2022 we prevented nosocomial transmission and potential outbreaks. However, considering the impact and financial consequences for such a screening, the cost – benefit ratio must be evaluated. The lessons learned are useful for pandemic preparedness.

## Introductie

In november 2021 bestempelde de WHO de SARS-CoV-2-variant omikron als nieuwe Variant of Concern (VOC) [1]. Al snel bleek dat een omikroninfectie kan resulteren in een mild of zelfs asymptomatisch ziektebeloop en gemakkelijker overdraagbaar is dan de voorgaande varianten, ook bij het ontbreken van klachten [2]. Ook werd duidelijk dat de omikronvariant wel degelijk een ernstig ziektebeloop kan veroorzaken bij kwetsbare populaties ondanks vaccinatie, zoals bij ouderen en immuungecompromitteerde personen. Tevens werden er meer herinfecties gezien bij mensen die eerder een SARS-CoV-2-infectie hadden doorgemaakt [3]. Deze kenmerken hadden als gevolg dat er een snelle toename van het aantal SARS-CoV-2-gevallen werd gezien [4].

Het Radboudumc volgt sinds het begin van de COVID-19-pandemie het test- en isolatiebeleid van de Rijksoverheid en de leidraad van de Federatie Medisch Specialisten (FMS) [5,6]. Om het risico op COVID-19 te bepalen, wordt bij iedere patiënt een COVID-19-anamnese afgenomen. Daarnaast is er een preoperatief testbeleid volgens de geldende FMS-leidraad [7]. De anamnese bestaat uit vragen over de aanwezigheid van COVID-19 bij de patiënt of zijn naasten (partner, huisgenoten), het hebben van COVID-19-gerelateerde symptomen en of er sprake is van een recente blootstelling aan COVID-19 of een verblijf in een gebied met een hoge COVID-19-incidentie. Aan de hand van deze vragenlijst wordt bepaald of diagnostiek naar SARS-CoV-2 en

isolatiemaatregelen nodig zijn.

Diagnostiek naar het coronavirus bestaat uit een SARS-CoV-2-PCR van een keel- en/of nasofarynx-uitstrijk. Alle patiënten met (verdenking op) COVID-19 op basis van de anamnese, worden verpleegd in druppel-contactislatie + op een eenpersoonskamer. Zorgmedewerkers dragen bij het betreden van de kamer een isolatiejas met lange mouwen, chirurgisch mondneusmasker type IIR, spatbril en handschoenen. Bij het uitvoeren van een aerosolvormende luchtweghandeling wordt het chirurgisch mondneusmasker vervangen door een FFP-masker. Hierbij wordt de definitie van de FMS voor een aerosolvormende luchtweghandeling gehanteerd [8]. Aanvullend op bovenstaande infectiepreventiemaatregelen, hanteert het Radboudumc vanaf oktober 2020 een universeel maskerbeleid in de patiëntenzorg. Ook dragen alle medewerkers, patiënten en bezoekers een chirurgisch mondneusmasker type IIR in openbare ruimten.

De verschillende COVID-19-golven die Nederland vóór november 2021 (dus pré-omikron) heeft doorgemaakt, hebben in ons ziekenhuis niet geleid tot grote nosocomiale uitbraken. Hierbij hebben waarschijnlijk de COVID-19-anamnese, het laagdrempelig testbeleid en het universele masker-beleid een belangrijke rol gespeeld. Wel hebben we incidenteel nosocomiale besmettingen gezien bij opgenomen patiënten en af en toe een cluster waarbij diverse patiënten en/of medewerkers betrokken waren. De (mogelijke) verspreiding van SARS-CoV-2 was in deze gevallen telkens snel onder controle door het aanscherpen van de infectiepreventiemaatregelen. Terwijl Nederland zich begin 2022 opmaakte voor een nieuwe golf met de omikronvariant maakten wij ons zorgen over de toepasbaarheid van de ‘COVID-19-anamnese’. Vanuit onder andere het Verenigd Koninkrijk kwamen berichten over nosocomiale verspreiding, mogelijk door onopgemerkte SARS-CoV-2-besmettingen [9]. Patiënten zonder COVID-19-klachten worden immers niet opgepikt uit de COVID-19-anamnese en worden dus niet getest en in isolatie verpleegd. Het COVID-19-infectiepreventieteam van het Radboudumc besloot daarom om bij alle patiënten op de dag van opname een SARS-CoV-2-PCR af te nemen. Deze pilot had als doel het tegengaan van nosocomiale SARS-CoV-2-transmissie en liep van januari tot april 2022. In dit artikel beschrijven we de aanpak en de resultaten van de pilot.

## Methoden

### Projectteam

De implementatie en uitvoering van de preventieve SARS-CoV-2-screening werden projectmatig aangepakt en gecoördineerd door het intern organisatieadviesbureau van het Radboudumc. Het projectteam bestond uit een projectleider van het adviesbureau, medische coördinatoren (hoofd unit infectiepreventie/ arts-microbioloog en medisch COVID-coördinator/ internist-infectioloog), student coördinator, Informatie Management projectmanager en een deskundige infectiepreventie. De projectleider was verantwoordelijk voor de contacten met de verpleegafdelingen, de interne communicatie, het opstellen van protocollen, de rapportage in het EPD en voor de voortgang van het project door frequent contact te houden met het projectteam en de verzamelde gegevens terug te koppelen.

### Preventieve SARS-CoV-2-screening

Voor het preventief testen op SARS-CoV-2 werd een keel- en/of nasofarynxuitstrijk in universeel transportmedium afgenomen binnen 24 uur na opname van iedere patiënt (ouder dan 4 jaar) zonder COVID-19-verdenking. Op werkdagen werd de diagnostiek afgenomen door hiervoor getrainde medewerkers (waaronder medische studenten). Gedurende het weekend en op de afdeling SEH, intensive care, medium care, hematologie, verloskunde en de kinder-afdelingen werden de uitstrijken gedaan door een verpleegkundige van de betreffende afdeling. Tijdens afname droeg de medewerker onsteriele handschoenen, een spatbril en een chirurgisch mond-neusmasker type IIR.

Na transport naar de afdeling medische microbiologie, werd binnen 24 uur met PCR (Roche Flow, met als target zowel E- als N-gen) de aanwezigheid van SARS-CoV-2 bepaald. Het resultaat (inclusief de Ct-waarde) werd beoordeeld door een arts-microbioloog met aandachtsgebied virologie en vervolgens verwerkt in het EPD. Een patiënt met een Ct-waarde van 35 of lager werd beschouwd als potentieel besmettelijk. Bij een Ct-waarde hoger dan 35 zonder bekende recent (acht weken of korter geleden) doorgemaakte SARS-CoV-2-infectie, werd de volgende dag een tweede SARS-CoV-2-screening afgenomen; bij een significante daling van de Ct-waarde werd de patiënt alsnog als besmettelijk beschouwd. In alle andere gevallen

werden patiënten als niet-besmettelijk beoordeeld. Een positieve uitslag werd door de viroloog doorgegeven aan de behandelend arts. Deze informeerde de patiënt en zorgde ervoor dat isolatieverpleging (druppel-contactisolatie +) werd opgestart. Indien nodig werd door de unit infectiepreventie een contactonderzoek geïnitieerd en gecoördineerd. De reguliere (cito) diagnostiek naar SARS-CoV-2 bij patiënten met COVID-19-verdenking kreeg voorrang op de preventieve screening, omdat de ingestelde presumptieve isolatie bij een negatieve uitslag in veel gevallen kon worden opgeheven.

Het aantal afgenomen preventieve SARS-CoV-2-testen en het aantal en percentage positief geteste patiënten werden bijgehouden in een geautomatiseerd dashboard. De unit infectiepreventie verzamelde aanvullende patiëntgegevens van alle positieve patiënten en de eindconclusie van het eventuele contactonderzoek zodra de incubatieperiode was verstreken.

### Uitvraag ontstaan symptomen

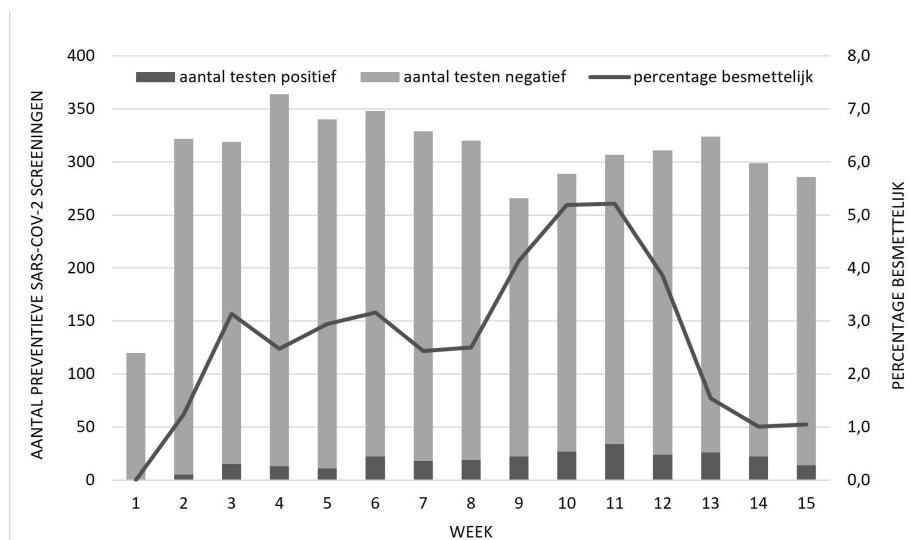
Patiënten die in de preventieve SARS-CoV-2-screening als besmettelijk werden beschouwd, werden gedurende vijf dagen dagelijks bevraagd (eventueel telefonisch) op het ontstaan van COVID-19-gerelateerde klachten.

## Resultaten

### Preventieve SARS-CoV-2-screening

Vanaf 6 januari 2022 tot 18 april 2022 werd de preventieve SARS-CoV-2-screening 4.544 keer afgenomen bij patiënten zonder klachten passend bij COVID-19. In 272 gevallen (5,9 procent) was de testuitslag positief, waarvan er 125 patiënten (2,8 procent) beoordeeld zijn als potentieel besmettelijk. Het aantal positieve en negatieve testuitslagen en het percentage besmettelijke patiënten is per week weergegeven in *figuur 1*. Een positieve testuitslag van een patiënt die beschouwd werd als niet besmettelijk, wordt in deze figuur weergegeven als positief. Van de 125 potentieel besmettelijke patiënten, waren de meeste opgenomen op de afdeling orthopedie (n = 19), gevolgd door de afdelingen heilkunde (n = 15), hoofd-halschirurgie (n = 12) en verloskunde (n = 12). De overige 67 patiënten lagen op verschillende verpleegafdelingen, zoals de afdeling kindergeneeskunde,

**Figuur 1.** Het aantal positieve en negatieve SARS-CoV-2-screenings per week en het percentage besmettelijke patiënten, vanaf 6 januari 2022 (week 1) in het Radboudumc.



intensive care en acuteopnameafdeling. In *figuur 2* (*pagina 34*) wordt de uitkomst van de preventieve SARS-CoV-2-screening schematisch weergegeven.

Bij 77 besmettelijke patiënten was er een indicatie voor contactonderzoek en zijn 201 kamergenoten geïnformeerd over blootstelling aan SARS-CoV-2. Toen de contactonderzoeken begonnen, waren 112 (56 procent) kamergenoten nog opgenomen in het Radboudumc. Deze patiënten werden in druppelcontactisolatie + verpleegd en getest via PCR op dag 1 en dag 5 na de laatste blootstelling. Bij een negatieve SARS-CoV-2-screening op dag 5 en klachtenvrij, werd de isolatie opgeheven. De blootstelling van kamergenoten heeft gezorgd voor 313 isolatiedagen in het Radboudumc.

Van alle 201 kamergenoten werd geïnventariseerd of ze COVID-19 hadden ontwikkeld binnen de incubatieperiode. Bij 9 kamergenoten (4,5 procent) bleek dit het geval. Er was geen statistisch significant verschil tussen indexpatiënten bij wie géén verspreiding was aangetoond (mediane Ct-waarde 25,8 [23,0-32,0]) vergeleken met patiënten bij wie het virus zich wel had verspreid (mediane Ct-waarde 28,3 [23,1-33,4];  $p = 0,473$ ). De overige 192 kamergenoten ontwikkelden geen COVID-19 en waren waarschijnlijk dus tijdig verwijderd van de besmettelijke bron. Deze bevindingen zijn samengevat in *figuur 2*. De verspreiding

heeft plaatsgevonden op de afdeling orthopedie ( $n = 6$ ) en de afdelingen verloskunde, urologie/gynaecologie en heelkunde ( $n = 1$  per afdeling).

### *Uitvraag ontstaan symptomen*

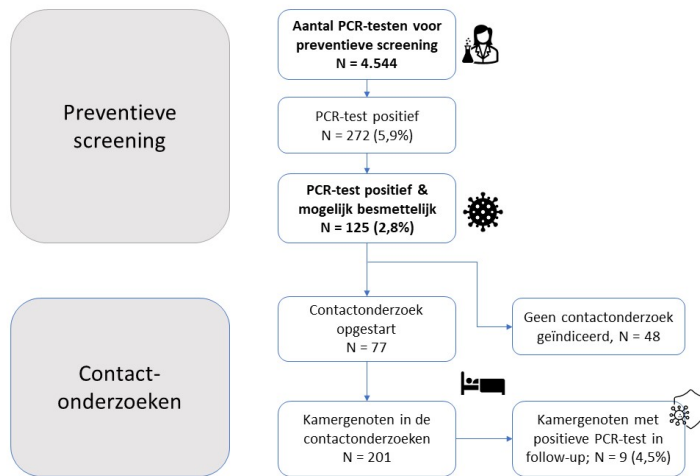
Van de ondervraagde besmettelijke patiënten had 53 procent binnen vijf dagen na de positieve test, COVID-19-gerelateerde klachten ontwikkeld. En 47 procent van de patiënten ontwikkelde geen klachten en zou zonder preventieve screening zeer waarschijnlijk niet herkend zijn als besmettelijk.

### **Discussie**

Door preventief alle opgenomen patiënten te screenen op SARS-CoV-2 zijn 125 (2,8 procent) asymptomatische patiënten geïdentificeerd als potentieel besmettelijk. Met deze vroegtijdige identificatie is voor 192 kamergenoten (95,6 procent) een eventuele nosocomiale SARS-CoV-2-besmetting voorkomen. Een deel van deze 192 contactpatiënten was reeds met ontslag op het moment van de positieve bevinding van de indexpatiënt. Voor deze groep patiënten heeft de preventieve screening geen effect gehad op de duur van de blootstelling. Hiermee dient rekening te worden gehouden bij de interpretatie van de opbrengst. Anderzijds, indien er géén preventieve SARS-CoV-2-screening was afgenomen, was de periode van bloot-



**Figuur 2.** Flowchart met het aantal uitgevoerde PCR-testen, het aantal positieve bevindingen en het aantal contactonderzoeken in de preventie SARS-CoV-2 screening in het Radboudumc in 2022.



stelling van de nog wel opgenomen kamergenoten langer en waren er mogelijk meer additionele contactpatiënten geweest (contacten van contacten). Daarnaast was 47 procent van de potentieel besmettelijke patiënten waarschijnlijk buiten beeld gebleven omdat ze geen symptomen hebben ontwikkeld. Mogelijk is dit percentage hoger omdat bijvoorbeeld postoperatieve moeheid of spierpijn ook als symptoom genoteerd kan zijn, maar niet te wijten was aan COVID-19.

Er is 77 keer een contactonderzoek opgestart en in 9 gevallen (4,5 procent) is er verspreiding aangetoond, maar de mediane Ct-waarden waren niet verschillend tussen indexpatiënten met of zonder verdere verspreiding. De transmissie van SARS-CoV-2 heeft zes keer plaatsgevonden op de afdeling orthopedie. Bij deze afdeling was de preventieve screening ook het vaakst positief in vergelijking met andere afdelingen. We hebben hier geen duidelijke verklaring voor kunnen vinden en beschouwen dit, mede gezien de kleine aantallen, als een toevalsbevinding. Een mogelijke verklaring is een snellere doorloop van patiënten in combinatie met de aanwezigheid van meerpersoonskamers. Toch hadden de positieve bevindingen veel impact voor patiënten en zorgmedewerkers. Zo moesten positieve en blootgestelde patiënten worden verplaatst vanwege isolatieverpleging en zijn er operaties uitgesteld omdat de patiënt SARS-CoV-2

positief bleek. Dit gaf extra druk op het zorgproces en de beddenscapaciteit. Daarnaast werd een aantal keer de uitslag bekend terwijl de patiënt op dat moment een operatie onderging, waardoor het (post-)operatieve proces plotseling moest worden aangepast. Vanwege de grote impact op het perioperatieve proces wordt aangeraden om de testprocedure voor deze patiëntengroep een volgende keer anders in te richten. Ondanks de grote impact, is door de vroegtijdige identificatie van een infectie leed voorkomen voor de patiënt, bijvoorbeeld door het uitstellen van een operatie die het ziektebeloop had kunnen verergeren, en voor zijn kamergenoten.

De aanpak van preventieve SARS-CoV-2-screening als project heeft bijgedragen aan een succesvolle implementatie en uitvoering. De projectleider hield de voortgang in de gaten, had continu het overzicht en kon tijdig bijsturen waar nodig. Hierdoor konden de projectleden zich richten op hun inhoudelijke kennis en inbreng. We concluderen dat het van belang is om toekomstige pilots zoals deze op eenzelfde manier aan te pakken.

Zoals verwacht, bleek het aantal positieve bevindingen een weerspiegeling van de landelijke trend. Op het moment dat de omikrongolf landelijk begon af te nemen, nam het aantal positieve patiënten uit de

preventieve screening ook af. Het projectteam besloot om te stoppen zodra het percentage besmettelijke patiënten twee achtereenvolgende weken lager was dan 1,5 procent. Dit was een pragmatisch besluit, waarbij de daling van de incidentie voldoende vertrouwen gaf om te stoppen met de preventieve screening. Hierbij was ook de verhouding tussen de input en opbrengst (output) van belang. Om dit goed in kaart te brengen is een uitgebreide kosten-baten-analyse nodig. Dit is een opzichzelfstaand project, waarbij het in kaart brengen van de kosten te doen zal zijn, maar de baten een stuk lastiger uit te drukken zijn in een waarde.

Een goede implementatie en uitvoering van infectie-preventiemaatregelen is belangrijk om verspreiding van onder andere virussen te voorkomen. Deze maatregelen zijn in het ziekenhuis van belang voor zowel zorgmedewerkers als patiënten en bezoekers. Door preventief screenen van asymptomatische patiënten in te zetten als aanvullende infectiepreventiemaatregel, zijn potentiële uitbraken in de kiem gesmoord. Wij zijn van mening dat een preventieve screening in de toekomst zeker overwogen dient te worden als de omstandigheden daar aanleiding toe geven. Hierbij dient men rekening te houden met de incidentie in de bevolking en de te verwachten ziektelast. Dit hangt weer af van de grootte van de (te verwachten) ziekenhuispopulatie die vatbaar is voor een ernstig ziektebeloop. De vaccinatiestatus en of er

verspreiding vanuit asymptomatische infecties wordt verwacht, spelen ook een rol. De kennis opgedaan tijdens deze pilot is bruikbaar voor de toekomst in het kader van pandemische paraatheid, zeker in het geval van een volgende pandemie met een respiratoir virus.

## Referenties

1. World Health Organisation. Classification of Omicron (B.1.1.529): SARS-CoV-2 Variant of Concern. 26-11-2021
2. Viana R, Moyo S, Amoako D, et al. Rapid epidemic expansion of the SARS-CoV-2 Omicron variant in southern Africa. *Nature*. 2022;603(7902):679-86.
3. Kannan S, Shaik Syed Ali P, Sheeza A. Omicron (B1.1.529) – variant of concern – molecular profile and epidemiology: a mini review. *Eur Rev Pharmacol Sci*. 2021;25(24):8019-22.
4. Bai Y, Du Z, Xu M, et al. International risk of SARS-CoV-2 Omicron variant importations originating in South Africa. *J Travel Med*. 2022;29(6):taac073.
5. Landelijke Coördinatie Infectieziektebestrijding. Richtlijn COVID-19. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu.
6. Leidraad Infectiepreventie maatregelen voor de ziekenhuiszorg van COVID-19 (verdachte) patiënten, Federatie Medisch Specialisten, versie 02 - 20 november 2020.
7. Leidraad Preoperatieve screening naar SARS-CoV-2 infectie bij asymptomatische patiënten ingepland voor chirurgie onder algehele anesthesie, Federatie Medisch Specialisten, versie juni 2021.
8. Leidraad Medische procedures die een infectieuze aerosol genereren (IAGP) met SARS-CoV-2, Federatie Medisch Specialisten, versie 3 – 12 juni 2020.
9. Suspected Covid outbreaks in UK hospitals double in a week. *The Guardian*. 22 Dec 2021.

# Influenzaseizoenen 2021/2022 in Nederland

## Griep is terug na de COVID-19-pandemie

Ron Fouchier, Mariëtte Hooiveld, Adam Meijer, Dirk Eggink, Liz Jenniskens, Stijn Raven, Brenda Westerhuis, Rianne van Gageldonk-Lafeber, Marit de Lange, Marion Koopmans

### Samenvatting

In 2021/2022 kwam het aantal personen met een influenza-achtig ziektebeeld per 10000 inwoners, zoals gerapporteerd door peilstationhuisartsen, niet in openvolgende weken boven de epidemische drempelwaarde. Er was echter wel sprake van een epidemie op basis van influenzavirusdetecties in ziekenhuizen en het aandeel influenzavirus-positieve monsters afgenomen bij patiënten met een acute luchtweginfectie bij peilstationhuisartsen en in GGD-teststraten. De griepepidemie begon later dan voorgaande seizoenen en duurde 12 weken, waarbij de lichte verhoging van het aantal mensen met een influenza-achtig ziektebeeld van week 9 tot 20 samenviel met forse aantallen influenzavirusdetecties. Vergelijking van de ernst en duur van deze epidemie met eerdere jaargangen is lastig door de impact van COVID-19. Er werden veel influenza A(H3N2)-virussen gedetecteerd, minder A(H1N1)pdm09-virussen en weinig influenza B-virussen, alle van de B/Victorialijn. Nagenoeg alle A(H3N2)- en A(H1N1)pdm09-virussen en de helft van de B/Victoriavirussen vertoonden grote antigenen veranderingen ten opzichte van de vaccincomponenten van het seizoen. Toch werd met Europese data een vaccineffectiviteit gemeld van 33 procent. Er werden weinig virussen gedetecteerd met een indicatie voor resistentie tegen huidige gebruikte virusremmers. Aan het eind van het seizoen werd een zoonose gevonden, veroorzaakt door een varkens A(H1N2)v-virus.

### Abstract

The number of individuals per 10000 inhabitants with influenza-like illness as reported by sentinel general practices did not exceed the epidemic threshold in subsequent weeks of the 2021/2022 season. However, an influenza epidemic was declared based on influenza virus detections reported by hospitals and the

proportion of influenza virus positive samples collected from patients in sentinel general practices and COVID-19 test facilities. The epidemic started later than previous seasons and lasted for 12 weeks, when a modest increase in reported incidence of influenza-like illnesses in general practices from weeks 9-20 was accompanied by large numbers of influenza virus detections. Comparison of severity and duration of this and previous epidemics is difficult due to the impact of COVID-19. A(H3N2)-viruses were frequently detected, followed by A(H1N1)pdm09-viruses and very few influenza B-viruses, all of the B/Victoria lineage. Virtually all A(H3N2) and A(H1N1)pdm09 viruses and approximately half of the B/Victoria viruses displayed substantial antigenic differences compared to the 2021/2022 vaccine components. Nevertheless, a vaccine effectiveness of 33 percent was reported based on European data. Only few viruses with an indication of resistance against currently used antivirals were detected. At the end of the season, a zoonosis of swine influenza virus A(H1N2)v was detected.

Erasmus MC, afdeling Viroscience, Nationaal Influenza Centrum, Rotterdam, prof. dr. R.A.M. Fouchier, prof. dr. M.P.G. Koopmans, virologen. RIVM, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Centrum Infectieziektebestrijding, Nationaal Influenza Centrum, Bilthoven, dr. A. Meijer, viroloog, dr. A.B. van Gageldonk-Lafeber, epidemioloog, dr. M.M.A. de Lange, epidemioloog. Nivel Zorgregistraties eerste lijn peilstations, Utrecht, dr. M. Hooiveld, senior onderzoeker. GGD regio Utrecht, afdeling Infectieziekten, Zeist, dr. C.F.H. Raven, arts-onderzoeker. GGD Amsterdam, afdeling Infectieziekten, Amsterdam, dr. B.M. Westerhuis, medisch-moleculair microbioloog in opleiding.  
Correspondentieadres: prof. dr. R.A.M. Fouchier (r.fouchier@erasmusmc.nl).

## Inleiding

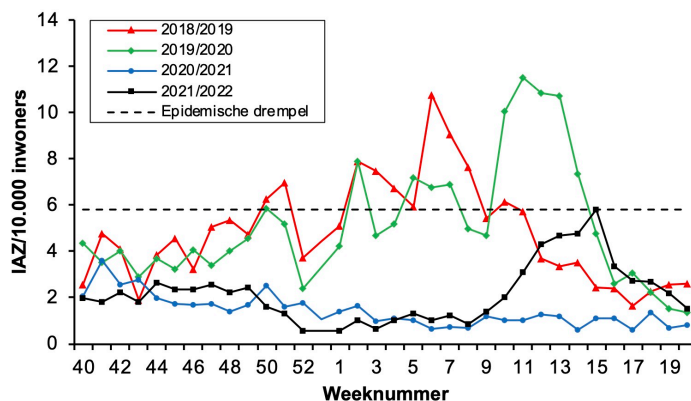
Influenzavirussen van type A, B en C veroorzaken griep bij mensen, waarbij type A en B voor de grootste ziektelast zorgen [1]. Sinds 2009 circuleren de influenza A-virussubtypen A(H1N1)pdm09 en A(H3N2) en twee antigene varianten van type B, B/Yamagata en B/Victoria [1]. In Nederland krijgen mensen van 60 jaar en ouder en patiënten met een medische indicatie de griepprik aangeboden in het kader van het Nationaal Programma Grieppreventie [2]. Dit quadrivalent griepvaccin bevat de meest recente, door de WHO aanbevolen componenten voor (H1N1)pdm09, A(H3N2), B/Yamagata en B/Victoria [3,4]. Deze vaccinsamenstelling wordt elk jaar opnieuw bekeken op basis van de op dat moment beschikbare epidemiologische en virologische gegevens. Vaccinproducenten hebben vervolgens een half jaar de tijd om het nieuwe vaccin voor het volgende seizoen te produceren en distribueren [5].

Het Nederlands Nationaal Influenza Centrum (NIC) maakt deel uit van het door de WHO gecoördineerde Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS) [6]. Dit netwerk volgt internationaal de opkomende virusvarianten om het griepvaccin wanneer nodig aan te passen. In Europa worden daartoe gegevens over de epidemie via het European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) gemeld aan de WHO en worden gekarakteriseerde influenzavirussen opgestuurd naar het WHO Collaborating Centre in Londen. In Nederland registreert het Nivel (Nederlands instituut voor onderzoek van de

gezondheidszorg) wekelijks het aantal patiënten met een influenza-achtig ziektebeeld (IAZ) of andere acute respiratoire infectie (ARI) bij huisartsen en vraagt de huisartsen om een deel van deze patiënten te bemonsteren voor virusdiagnostiek. De influenzavirussen verkregen uit deze huisartspatiënten, aangevuld met virussen van ziekenhuispatiënten, worden door RIVM en Erasmus MC vervolgens gekarakteriseerd. Voor een groot aantal virussen worden eerst de genetische eigenschappen bepaald, waarna voor een representatieve subset de antigene eigenschappen en de gevoeligheid voor antivirale medicijnen fenotypisch wordt vastgesteld. Dit artikel beschrijft de periode van week 40-2021 tot en met week 20-2022.

Om van een griepepidemie te spreken werd in Nederland voor het seizoen 2021/2022 een epidemische grens gehanteerd van 5,8 patiënten met IAZ per 10000 inwoners in twee opeenvolgende weken, met influenzavirusdetecties bij een substantieel aantal van deze patiënten [7]. Afgelopen seizoen (2020/2021) werd geen verheffing van de IAZ-incidentie gezien en werden nauwelijks influenzavirussen gedetecteerd, zodat er van een griepepidemie geen sprake was, waarschijnlijk door de COVID-19-maatregelen [8]. Hoewel een deel van die maatregelen werd opgeheven, was de verwachting dat ook in 2021/2022 het huisartsbezoek niet zou verlopen als in eerdere seizoenen door de nog geldende adviezen en maatregelen, zoals de beschikbaarheid van zelftesten en teststraten. Daarom werden er dit seizoen trends in

**Figuur 1.** Klinische influenza-activiteit in Nederland in de seizoenen 2018/2019 tot en met 2021/2022, weergegeven als het wekelijkse aantal patiënten met een influenza-achtig ziektebeeld per 10000 inwoners, gerapporteerd door de huisartsenpeilstations van week 40 tot en met week 20 van het volgende jaar. Bron: Nivel.



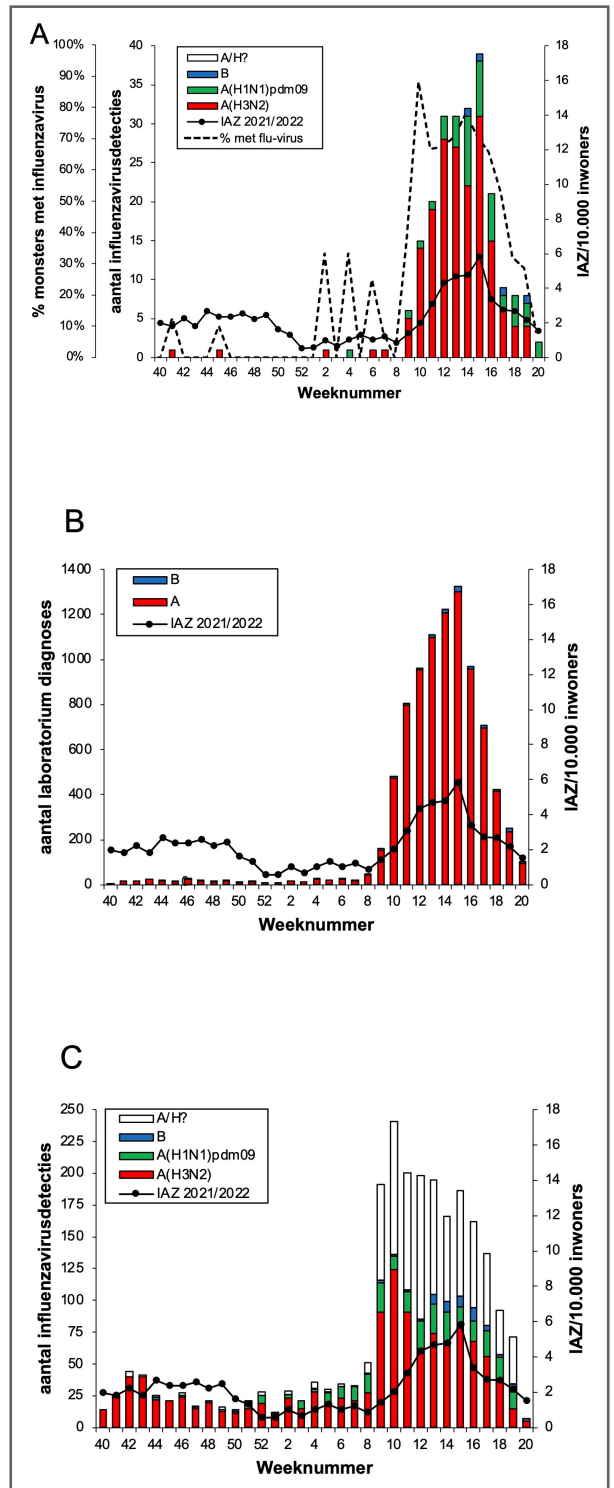
influenzavirusdetecties in de virologische weekstaten en GGD-teststraten gevolgd als extra informatiebronnen. Voor GGD-teststraten werd een gerandomiseerde subset van monsters breed getest op influenzavirussen en andere luchtwegvirussen bij het RIVM, UMCU, Diakonessenhuis Utrecht en GGD Amsterdam. Daarnaast werd het aantal huisartsenpeilstations dat monsters afnam in seizoen 2021/2022 uitgebreid van ongeveer 40 naar meer dan 80 en worden sinds begin 2021 deze monsters getest op een groot aantal luchtwegvirussen, waaronder influenzavirussen. Verder werd het aantal ziekenhuislaboratoria dat influenzavirus-positieve monsters instuurt uitgebreid van 19 naar 36 vanaf de start van het seizoen 2021/2022.

## Resultaten en discussie

### De influenzaepidemie van het seizoen 2021/2022

De influenzaepidemie duurde dit seizoen in totaal 12 weken, van week 9 tot en met week 20 van 2022, later dan gebruikelijk (figuur 1, pagina 37). Er was slechts een lichte verhoging zichtbaar van het aantal mensen dat zich met een IAZ meldde bij de huisarts, met een piek van 5,8 patiënten met IAZ per 10000 inwoners in week 15. Deze incidentie liep vanaf week 9 geleidelijk op, waarbij in een groot deel van de ingestuurde patiënten-monsters een influenzavirus werd gedetecteerd (figuur 2A). In de virologische weekstaten steeg

**Figuur 2A/B/C.** Virusedetecties in het influenzaseizoen 2021/2022. Detecties in door peilstations afgenomen monsters van patiënten met een IAZ (A), gemeld in de virologische weekstaten (B) en in monsters ingestuurd vanuit diagnostische ziekenhuislaboratoria (C). Afgebeeld zijn de wekelijkse aantallen influenzavirusdetecties, opgesplitst naar (sub)type. De aantallen zijn weergegeven als balken en als percentage van de monsters waarin een influenzavirus werd aangetroffen (A, stippellijn), af te lezen op de linker verticale as. Ook het aantal IAZ per 10000 inwoners per week is weergegeven, af te lezen op de rechter verticale as. Het relatief grote aantal niet gekarakteriseerde influenzavirussen type A ("A/H?") in panel C komt door maximering van het aantal inzendingen per ziekenhuis dat in aanmerking kwam voor sequentieanalyse.





het aantal influenzavirusdetecties van 44 in week 8 naar 153 in week 9, een toename passend bij de start van griepiepidemieën uit het recente verleden (*figuur 2B*). Het NIC ontving vanaf week 9 een sterk stijgend aantal influenzavirus-positieve monsters van de diagnostische laboratoria verspreid door het hele land (*figuur 2C*). Ook in monsters van de GGD-teststraten werd een toename van het percentage influenzavirus-positieve monsters waargenomen (niet getoond) [10]. Na week 20 werden nog slechts weinig influenza-virussen gedetecteerd en was de IAZ-incidentie weer vrijwel terug op het basisniveau.

### Overzicht van de onderzochte influenzavirussen

In deze griepiepidemie werden vooral veel A(H3N2)-virussen gevonden, veel minder A(H1N1)pdm09-virussen en nauwelijks influenza B-virussen. In de 228 volledig gekarakteriseerde influenzavirus-positieve monsters afgenomen door peilstationhuisartsen bij IAZ-patiënten werd 180 keer (79 procent) een A(H3N2)-virus gevonden, 44 keer (19 procent) een A(H1N1)pdm09-virus en 4 keer (2 procent) een influenzavirus type-B van de Victorialijn. In de 97 van ARI-patiënten afgenomen influenzavirus-positieve monsters werd 81 keer (84 procent) een A(H3N2)-virus

gevonden, 13 keer (13 procent) een A(H1N1)pdm09-virus en 3 keer (3 procent) een influenzavirus type B van de Victorialijn. Van de 2476 door diagnostische ziekenhuislaboratoria aangemelde influenzavirussen waren er 2412 (97 procent) van het A-type en 64 (3 procent) van het B-type. Van de 1737 volledig gekarakteriseerde influenzavirussen waren er 1347 (78 procent) van het A(H3N2)-subtype en 326 (19 procent) van het A(H1N1)pdm09-subtype. Alle gekarakteriseerde influenza B-virussen behoorden tot de Victorialijn.

### Karakterisering van influenza A(H1N1)pdm09-virussen

De overgrote meerderheid van de onderzochte A(H1N1)pdm09-virussen van dit seizoen behoorde genetisch tot clade 6B.1A.5a.1, waartoe de vaccinastam van 2020/2021, A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019, behoorde. Enkele virussen behoorden tot clade 6B.1A.5a.2, waartoe de vaccinastam van 2021/2022 behoort, A/Victoria/2570/2019 (*figuur 3A, pagina 41*). In de hemagglutinatieremmingstest (HAR) met fretten-sera waren grote verschillen te zien tussen de virussen van clades 6B.1A.5a.1 en 6B.1A.5a.2, met weinig antigene diversiteit binnen iedere clade (*tabel 1*).

**Tabel 1.** Antigene karakterisering van Nederlandse influenza A(H1N1)pdm09-virussen.

Virus	Clade	HAR titer* van antiserum van fretten geïnfecteerd met				
		NL/307/19	NL/475/20	CNIC1909	NL/121/20	IVR215
NL/307/19	6B.1A.5a	<b>7680</b>	10240	7680	480	320
NL/475/20	6B.1A.5a.1	7680	<b>10240</b>	7680	240	240
GD-Maonan/SWL1536/19	6B.1A.5a.1	2560	5120	<b>5120</b>	80	120
NL/121/20	6B.1A.5a.2	480	480	640	<b>5120</b>	5120
Victoria/2570/19	6B.1A.5a.2	320	640	1280	3840	<b>5120</b>
NL/10219/21	6B.1A.5a.1	5120	7680	5120	160	160
NL/112/21	6B.1A.5a.1	5120	7680	5120	240	240
NL/23/22	6B.1A.5a.1	3840	7680	5120	320	320
NL/28/22	6B.1A.5a.1	5120	7680	5120	240	240
NL/31/22	6B.1A.5a.1	5120	7680	7680	320	320
NL/410/22	6B.1A.5a.1	1920	3840	2560	160	160
NL/10227/21	6B.1A.5a.1	960	3840	2560	240	240
NL/10030/22	6B.1A.5a.2	240	160	320	3840	5120
NL/10532/22	6B.1A.5a.2	640	240	960	3840	5120

\* HAR-titers werden bepaald met erythrocyten van kalkoenen. CNIC1909 is een reassortant van A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019 en IVR215 is een reassortant van A/Victoria/2570/2019.

**Tabel 2.** Antigene karakterisering van Nederlandse influenza A(H3N2)-virussen.

Virus	Clade HA	Clade NA	HAR titer* van antiserum van fretten geïnfecteerd met						
			NL/124/20	NL/69/20	NL/2498/19	NL/122/20	Cambodia/20	NL/7/21	Darwin/9/21
NL/124/20	3C.2a1b.1a	3C.2a1b.1a	<b>320</b>	<b>80</b>	60	40	10	<10	<20
NL/69/20	3C.2a1b.1b	3C.2a1b.1b	160	<b>480</b>	160	80	10	<10	<20
NL/2498/19	3C.2a1b.2a	3C.2a1b.2a	80	40	<b>320</b>	160	10	20	<20
NL/122/20	3C.2a1b.2b	3C.2a1b.2b	160	80	<b>640</b>	<b>120</b>	<10	40	40
Cambodia/e0826360/20	3C.2a1b.2a.1	3C.2a1b.2a.1	2560	160	160	<10	<b>640</b>	320	240
NL/7/21	3C.2a1b.2a.2	3C.2a1b.2a.2	20	<10	20	<10	<10	<b>640</b>	480
Darwin/9/21	3C.2a1b.2a.2	3C.2a1b.2a.2	640	240	320	30	120	2560	<b>2560</b>
NL/10011/21	3C.2a1b.2a.2	3C.2a1b.2a.2	30	<10	20	<10	<10	480	<b>320</b>
NL/103/21	3C.2a1b.2a.2	3C.2a1b.2a.2	20	<10	10	<10	<10	320	240
NL/10025/2022	3C.2a1b.2a.2	3C.2a1b.2a.2	40	<10	10	<10	30	1280	1280
NL/92/21	3C.2a1b.2a.2	3C.2a1b.2a.2	40	<10	20	<10	10	480	320
NL/10062/21	3C.2a1b.2a.2	3C.2a1b.2a.2	30	10	10	<10	<10	640	480
NL/9/2022	3C.2a1b.2a.2	3C.2a1b.2a.2	80	10	<10	<10	10	160	120
NL/1/2022	3C.2a1b.2a.2	<b>3C.2a1b.1a</b>	20	10	<10	<10	20	640	320
NL/832/22	3C.2a1b.2a.2	<b>3C.2a1b.1a</b>	20	<10	<10	<10	<10	240	160
NL/110/21	3C.2a1b.1a	3C.2a1b.1a	240	80	80	20	10	<10	<20
NL/10206/21	3C.2a1b.1a	3C.2a1b.1a	320	60	30	10	<10	<10	<20

\* HAR-titers werden bepaald met erythrocyten van kalkoenen met gemodificeerde glycanen [15].

Drie aminozuurveranderingen direct naast de receptorbindingsite (RBS) vallen op tussen de virussen van clades 6B.1A.5a.1 en 6B.1A.5a.2, te weten K130N, N156K en A187D. Virussen zoals het enigszins afwijkende A/Netherlands/10227/2021 (*tabel 1, pagina 39*) met veranderingen P137S en G155E werden ook elders gemeld als afwijkend [3]. Door de goede antigene match tussen A/Victoria/2570/2019 en de wereldwijd in frequentie toenemende clade 6B.1A.5a.2-virussen werd vastgehouden aan deze vaccinkeuze voor 2022/2023.

### Karakterisering van influenza A(H3N2)-virussen

In Nederland werden nog enkele virussen van clade 3C.2a1b.1a waargenomen, maar de grote meerderheid van de gekarakteriseerde virussen behoorde tot clade 3C.2a1b.2a.2, terwijl de vaccinstam A/Cambodia/e0826360/2020 tot clade 3C.2a1b.2a.1 behoort (*figuur 3B*). De Nederlandse 3C.2a1b.2a.2-virussen waren niet alleen genetisch divers wat betreft het hemagglutininegen maar ook door uitwisseling ('reassortment') van de zeven overige gensegmenten met 3C.2a1b.1a-virussen.

De Nederlandse 3C.2a1b.1a-virussen reageerden vergelijkbaar in de HAR met oude Nederlandse virussen van dezelfde clade zoals A/Netherlands/124/

2020 (*tabel 2*). De Nederlandse 3C.2a1b.2a.2-virussen gaven ondanks de genetische diversiteit redelijk vergelijkbare HAR-patronen. Helaas waren er ook dit jaar forse verschillen in HAR-activiteit tussen de in eieren gekweekte vaccinstammen en in cellen gekweekte Nederlandse virussen, waardoor directe antigene verwantschap tussen deze virussen lastig was af te lezen. Een antiserum opgewekt tegen eigekeweekt A/Darwin/9/2021 gaf echter vergelijkbare titers als een antiserum opgewekt tegen het celgekeweekt 3C.2a1b.2a.2-virus A/Netherlands/7/2021. Omdat virussen van clade 3C.2a1b.2a.2 wereldwijd dominant werden en er een goede antigene match bleek te zijn met A/Darwin/9/2021 werd deze stam door de WHO voorgesteld voor het 2022/2023-vaccin.

### Karakterisering van influenza B-virussen

Alle dit seizoen gekarakteriseerde influenzavirussen type B waren van de Victorialijn. Ongeveer de helft behoorde tot clade V1A.3a.2, terwijl de andere helft, die dominant werd naar het einde van het seizoen, net als de 2021/2022-vaccinstam B/Washington/2/2019 tot de 'oudere' clade V1A.3 behoorde (*figuur 3C*). Er waren forse antigene verschillen waarneembaar tussen de virussen uit deze twee clades (*tabel 3, pagina 42*). Vooral aminozuurveranderingen P144L,

N150K, N197E/D en K203R vallen op tussen de V1A.3- en V1A.3a.2-virussen. Van de veranderingen op posities 150 en 203 werd recent aangetoond dat ze een grote antigene impact hebben [9]. Gezien de grote antigene verschillen tussen de oude clade V1A.3-vaccinstam en de opkomende virussen van clade V1A.3a.2 werd een nieuwe vaccinkeuze gemaakt voor het noordelijk halfrond voor 2022/2023 met virus B/Austria/1359417/2021 uit clade V1A.3a.2.

### Vaccineffectiviteit

Uit de resultaten van de Europese I-MOVE-studie waaraan Nederland deelneemt, werd ondanks de bovengenoemde substantiële mismatches van het vaccin een influenzavaccineffectiviteit van 33 procent gemeten tegen alle influenzavirussen. De effectiviteit was 75 procent tegen A(H1N1)pdm09-virussen en 29 procent tegen A(H3N2)-virussen in alle leeftijden [11].

### Vaccinsamenstelling voor het seizoen 2022/2023

Op 25 februari 2022 adviseerde de WHO voor het noordelijk halfrond over de samenstelling van het

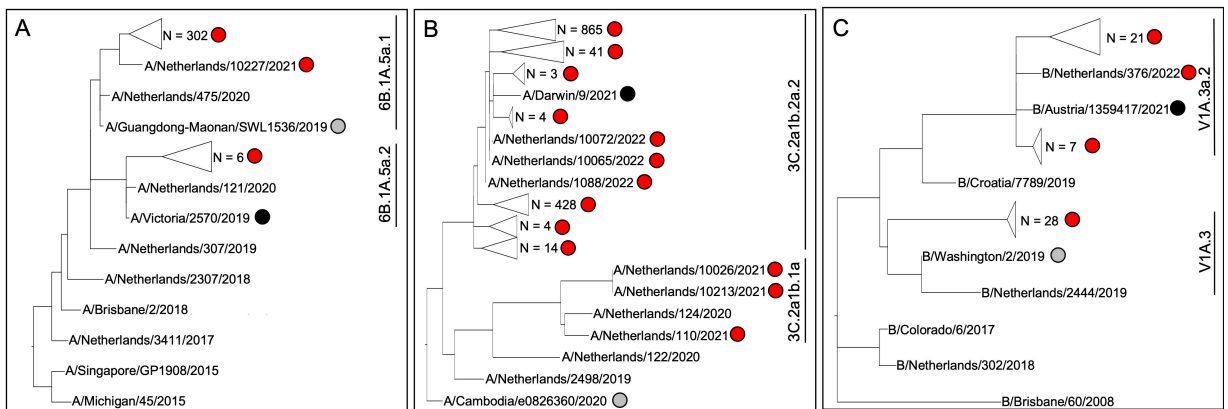
influenzavaccin voor 2022/2023. De componenten voor A(H1N1)pdm09 en voor de B/Yamagatalijn werden niet aangepast. De geadviseerde samenstelling is [3]:

- A/Victoria/2570/2019 (H1N1)pdm09-achtig virus;
- A/Darwin/9/2021 (H3N2)-achtig virus;
- B/Austria/1359417/2021-achtig virus, van de Victorialijn;
- B/Phuket/3073/2013-achtig virus, van de Yamagatalijn.

### Gevoeligheid voor antivirale middelen

Tijdens het seizoen 2021/2022 werd voor 1698 influenzavirussen (309 A(H1N1)pdm09, 1334 A(H3N2) en 55 B) de sequentie van het neuraminidasegen onderzocht op aminozuursubstituties die resistentie tegen neuraminidaseremmers kunnen veroorzaken. Substitutie H275Y, geassocieerd met resistentie tegen oseltamivir, werd gevonden in 1 A(H1N1)pdm09-neuraminidasesequentie. Of deze patiënt werd behandeld met oseltamivir is niet bekend. Er werd geen

**Figuur 3.** *Fylogenetische analyse van de influenzavirussen in Nederland in het seizoen 2021/2022.*



De stambomen voor (A) influenzavirus A(H1N1)pdm09, (B) influenzavirus A(H3N2)- en (C) influenza B-virus van de Victorialijn zijn berekend met de nucleotidesequenties coderend voor het hemagglutinine eiwit. De 'Maximum Likelihood'-bomen zijn gemaakt met Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA X) versie 10.0.5, met een 'General Time Reversible'-model. In de figuur zijn grote groepen Nederlandse virussen uit seizoen 2021/2022 geclusterd weergegeven als grote witte driehoeken met vernoeming van het aantal taxa in de tak, waarbij de lengte van de driehoek een maat is voor de diversiteit binnen het cluster. Aan de rechterkant zijn de clades weergegeven. Grijs en zwarte stippen markeren respectievelijk de vaccinstammen van 2021/2022 en 2022/2023. Rode stippen markeren Nederlandse virussen uit seizoen 2021/2022.

**Tabel 3.** Antigene karakterisering van Nederlandse influenza B-virussen van de Victorialijn.

Virus	Clade	HAR titer* van antiserum van fretten geïnfecteerd met				
		NL/302/18	NL/2444/19	Washington/2/19	Austria/1359417/21	NL/10007/21
NL/302/18	V1A.1	<b>240</b>	40	160	<10	<10
NL/2444/19	V1A.3	160	<b>1280</b>	960	40	30
Washington/2/19	V1A.3	640	480	<b>2560</b>	60	30
Austria/1359417/21	V1A.3a.2	160	320	240	<b>2560</b>	2560
NL/10007/21	V1A.3a.2	320	320	320	2560	<b>2560</b>
NL/568/22	V1A.3a.2	320	240	240	2560	2560
NL/781/22	V1A.3a.2	320	320	320	2560	2560
NL/376/22	V1A.3a.2	160	320	160	3840	2560
NL/657/22	V1A.3a.2	240	320	240	2560	2560
NL/824/22	V1A.3a.2	240	320	240	2560	2560
NL/11164/22	V1A.3a.2	160	320	240	3840	2560
NL/11211/22	V1A.3a.2	240	320	320	2560	2560
NL/10895/22	V1A.3	120	320	160	10	10
NL/11263/22	V1A.3	80	480	320	30	10
NL/11267/22	V1A.3	<10	320	160	10	<10
NL/11305/22	V1A.3	80	160	120	<10	<10

\* HAR-titers werden bepaald met erythrocyten van kalkoenen.

virusisolaat verkregen uit dit monster om het fenotype te bevestigen. Voor één influenza B-virus werd fenotypisch een 7,7-voudige resistentie gemeten tegen zanamivir ten opzichte van andere influenza B-virussen over de afgelopen seizoenen. Er werden geen aminozuurveranderingen waargenomen waarvan bekend is dat ze resistentie veroorzaken.

Voor 1408 influenzavirussen (253 A(H1N1)pdm09, 1120 A(H3N2) en 35 B) werd de sequentie van het PA-gen onderzocht op aminozuursubstituties die resistentie tegen baloxavir kunnen veroorzaken. Een E23Gsubstitutie werd waargenomen in 2 A(H3N2)-PA-sequenties. Of deze patiënten werden behandeld met baloxavir is niet bekend. Er werd van één van deze virussen een isolaat verkregen dat in de WHO-referentielaboratoria in Atlanta en Tokyo respectievelijk een 4,5-voudige en 5,1-voudige reductie in gevoeligheid voor baloxavir liet zien, wat milde resistentie betekent volgens het WHO-criterium van meer dan 3-voudige reductie in gevoeligheid [12].

Alle 202 A(H1N1)pdm09-virussen, behalve A/Netherlands/11411/2022, en alle 764 A(H3N2)-virussen hadden de S31N-aminozuurverandering in

M2 die resistentie veroorzaakt voor M2-ionkanaalblockers. Dit komt overeen met de waarneming dat de laatste jaren wereldwijd in nagenoeg alle geteste A(H1N1)pdm09- en A(H3N2)-virussen deze substitutie aanwezig was. M2-ionkanaalblockers worden dan ook niet meer voorgeschreven voor de behandeling van influenza.

#### *A(H1N2v)-varkensgriepzoönose*

Hoewel deze rapportage de periode van week 40/2021 tot week 20/2022 betreft, is het vermeldenswaardig dat in week 39/2022 een zoönose aan het licht kwam bij een jongvolwassen patiënt in zuidoost Nederland. Virus A/Netherlands/11748/2022 werd door sequenzen gekarakteriseerd als een varkensinfluenzavirus A(H1N2)v, 'Eurasian avian-like' clade 1C.2.2. De patiënt meldde zich bij de spoedeisende eerste hulp met koorts en rillingen, enkele dagen na blootstelling aan varkens. De patiënt had in maart 2021 een autologe beenmergtransplantatie ondergaan, maar werd inmiddels weer als immuuncompetent beschouwd en is na de infectie volledig hersteld. Rondom deze indexcasus zijn geen andere personen

met klachten vastgesteld. Het virus is aangeboden aan het WHO-referentielaboratorium in Londen als mogelijk kandidaat-vaccinvirus, hoewel de antigene verwantschap groot was met het kandidaat-vaccinvirus A/Netherlands/10370-1b/2020 (H1N1v).

## Conclusie

De influenzaepidemie van 2021/2022 duurde 12 weken en werd hoofdzakelijk veroorzaakt door A(H3N2)-en A(H1N1)pdm09-virussen. In week 9 was voor de tweede opeenvolgende week sprake van een substantieel aantal en snelle toename van influenzavirusdetecties in de weekstaten, samenvallend met een sterke stijging van het aantal inzendingen van virussen door de diagnostische laboratoria aan het NIC en een toename van het percentage influenzavirus-positieve monsters in de GGD-teststraten. De IAZ-incidentie liep vanaf week 9 geleidelijk op, waarbij in een groot deel van de door peilstations ingestuurde monsters influenzavirussen werden gedetecteerd. Na week 20 waren deze indicatoren alle vrijwel op het basisniveau terug, hoewel sporadisch nog influenzavirussen gedetecteerd werden (deze zijn in dit artikel niet beschreven). De 'area under the curve' voor de virologische weekstaten (*figuur 2B*) was vergelijkbaar met die van het seizoen 2017/2018 toen B/Yamagata een belangrijke bijdrage aan de epidemie, met behoorlijke impact op de zorg leverde [13]. De ernst van de 2021/2022-epidemie ten opzichte van eerdere seizoenen is echter moeilijk in te schatten door diverse factoren, zoals verschil in testbeleid tussen de seizoenen, populatie-immuniteit, vaccinmatch et cetera.

Omdat er relatief weinig monsters konden worden ingestuurd vanuit de peilstations werd het aantal diagnostische laboratoria dat monsters instuurde voor karakterisering bijna verdubbeld en werd hen ook gevraagd om alle influenzavirus-positieve monsters in te sturen. Hierdoor konden ruim voldoende virussen genotypisch en fenotypisch worden gekarakteriseerd. Het merendeel (97 procent) van de onderzochte virussen betrof influenza A-virussen, waarvan 82 procent influenza A(H3N2)-virussen. Er werd één zoönose met A(H1N2)v-virus ontdekt. Net als elders in de wereld behoorden alle influenza B-virussen tot de B/Victorialijn en begint het er steeds meer op te lijken dat de B/Yamagata-achtige virussen tijdens COVID-19 verdwenen zijn [14]. Nagenoeg alle

A(H3N2)-en A(H1N1)pdm09-virussen en ongeveer de helft van de B/Victoriavirussen waren een genetische mismatch met de 2021/2022-vaccincomponenten en vertoonden daarmee ook grote antigenische verschillen. Ondanks deze grootschalige mismatch berekende het I-MOVE-consortium een vaccineffectiviteit van 33 procent gemeten tegen alle influenzavirussen over alle leeftijdscategorieën. De aanbeveling voor de vaccinsamenstelling voor 2022/2023 door de WHO is een logische keuze, in lijn met de gegevens uit Nederland in 2021/2022.

## Dankbetuigingen

Wij zijn zeer erkentelijk voor de bijdragen van de peilstationhuisartsen van Nivel Zorgregistraties eerste lijn. Zonder de extra inzet in 2021/2022 van de diagnostische laboratoria was deze surveillance evenmin mogelijk geweest. De NWKV en GGD teststraten worden hartelijk bedankt voor het delen van data en monsters. De auteurs danken verder M. Pronk, P. Lexmond, dr. M. Richard, M. Silva, T. den Butter (NIC-Erasmus MC), M. Bagheri, G. Goderski, J. Sluimer, C. Herrenbrugh, S. van den Brink, L. Wijsman, S. van Deemter, W. Jones, T. Sprong, E. Vierklauw, dr. A. Teirlinck, drs. L. Jenniskens, dr. D. Reukers (NIC-RIVM) voor de uitstekende technische ondersteuning. E. Baarda, M. Riethof, M. Klinkhamer, C. Kampshoff, J. Hendriksen, R. van den Burgh en I. Haitsma (Nivel) worden bedankt voor hun inzet voor de Nivel Peilstations. Dr. S.F.T. Thijsen (Diaconessenhuis Utrecht), dr. N.L. Plantinga, dr. R. Schuurman, dr. L.M. Hofstra (UMCU), dr. M. van Lanschot en D. Hoogenkamp (GGD regio Utrecht), Mariken van der Lubben, Rene Vigeveno (GGD Amsterdam) bedanken wij voor hun inzet voor de respiratoire surveillance in de GGD-teststraten. Prof. G.J. Boons en dr. R. de Vries (Universiteit Utrecht) worden bedankt voor het leveren van gemodificeerde erythrocyten. Al onze influenzavirussequenties zijn beschikbaar via GISAID en wij danken GISAID en alle inzenders voor het delen van data.

The authors gratefully acknowledge the generous gift of influenza reference viruses and antisera from Dr. J. McCauley from the World Influenza Centre in London. We also thank the WHO Collaborating Centres for Influenza in Atlanta and Tokyo for phenotypic baloxavir resistance testing.



## Referenties

1. Krammer F, Smith GJD, Fouchier RAM, et al. Influenza. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4:3.
2. <https://www.rivm.nl/griep-grieprik/grieprik/achtergrondinformatie-grieprik>.
3. <https://www.who.int/publications/m/item/recommended-composition-of-influenza-virus-vaccines-for-use-in-the-2022-2023-northern-hemisphere-influenza-season>.
4. Meijer A, Fouchier R, Donker GA, et al. Influenzavaccinatie in Nederland – naar het quadrivalent influenzavaccin. *Ned Tijdschr Med Microbiol*. 2019;27(3):148-55.
5. Meijer A, Timmermans J, Donker GA, et al. Elk jaar een nieuw griepvaccin. Hoe wordt de samenstelling ervan bepaald? *Tijdschr Infect*. 2017;12:33-40.
6. Hay AJ, McCauley JW. The WHO global influenza surveillance and response system (GISRS)-A future perspective. *Influenza Other Respir Viruses*. 2018;12:551-7.
7. Hooiveld M, Hendriksen J, Fouchier R, et al. Grenswaarde griep epidemie winter 2020-2021. Utrecht: Nivel, 2020. <https://www.nivel.nl/nl/nieuws/grenswaarde-griep-epidemie-2020-2021-vastgesteld-op-58-100000-inwoners>.
8. Reukers DFM, van Asten L, Brandsema PS, et al. Annual report Surveillance of COVID-19, influenza and other respiratory infections in the Netherlands: winter 2020/2021. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu RIVM 2021. <https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/2021-0133.pdf>.
9. Rosu ME, Lexmond P, Bestebroer TM et al. Substitutions near the HA receptor binding site explain the origin and major antigenic change of the B/Victoria and B/Yamagata lineages. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2022;119:e2211616119.
10. Reukers DFM, van Asten L, Brandsema PS, et al. Annual report Surveillance of COVID-19, influenza and other respiratory infections in the Netherlands: winter 2021/2022. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu RIVM 2022. <https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/2022-0098.pdf>.
11. Kissling E, Pozo F, Martínez-Baz I, et al. Influenza vaccine effectiveness against influenza A subtypes in Europe: Results from the 2021–2022 I-MOVE primary care multicentre study. *Influenza Other Respi Viruses*. 2023;17(1):e13069. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/irv.13069>
12. Govorkova EA, Takashita E, Daniels RS, et al. Global update on the susceptibilities of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors and the cap-dependent endonuclease inhibitor baloxavir, 2018-2020. *Antiviral Res*. 2022;200:105281.
13. Fouchier R, Meijer A, Donker G, et al. Influenzaseizoen 2017/2018 in Nederland. *Ned Tijdschr Med Microbiol*. 2019;27(1):53-64.
14. Paget J, Caini S, Del Riccio M, et al. Has influenza B/Yamagata become extinct and what implications might this have for quadrivalent influenza vaccines? *Euro Surveill*. 2022;27(39):2200753.
15. Broszeit F, van Beek RJ, Unione L, et al. Glycan-remodeled erythrocytes facilitate antigenic characterization of recent A/H3N2 influenza viruses. *Nat Commun*. 2021;12:5449.

# ‘Statistiek, validatie en meetonzekerheid voor het Laboratorium’ (dr. J.W.A. Klaessens)

Jean-Luc Murk



*Auteur: Dr.  
J.W.A. Klaessens  
Verschenen: 2021  
Druk: 5e  
Aantal pagina's:  
320  
Uitgever: Syntax  
Media  
Prijs: 59,00 euro  
ISBN:  
9789491764509*

In 2021 is de vijfde druk verschenen van het boek *Statistiek, validatie en meetonzekerheid voor het Laboratorium*, ruim twee jaar na de vierde druk. Zoals in de vorige drukken behandelt dr. Klaessens de wiskundige instrumenten die gebruikt kunnen worden om laboratoriumassays te beoordelen. De nieuwe uitgave bevat nu ook de Microsoft Excel-functies voor de statistiek. Dat maakt het toepassen daarvan nog toegankelijker en verlaagt de drempel om deze in te zetten.

Het 320 pagina's tellende boek is in drie delen te verdelen. Het eerste deel behandelt in zes hoofdstukken de statistiek die relevant is voor het analyseren van laboratoriumassays, inclusief de bijbehorende excelfuncties. Deze hoofdstukken leggen uit waarop statistische methoden gebaseerd zijn en helpen zo begrijpen wanneer welke toets of functie moet worden gebruikt. In feite kunnen deze hoofdstukken gezien worden als een basiscursus statistiek.

Het tweede deel gaat in vijf hoofdstukken in op veelvoorkomende probleemstellingen in de laboratoriumsetting en bespreekt hoe de wiskundige instrumenten daarvoor ingezet kunnen worden. De onderwerpen die aan bod komen zijn onder andere kwaliteitscontrole, validatie en verificatie, robuustheidsonderzoek, meetonzekerheid en de vergelijking van analysemethoden.

Het laatste deel van het boek bestaat uit een serie bijlagen met tabellen die gebruikt kunnen worden voor de statistiek. Daarnaast bevat het een index en overzicht van statistische functies in Excel, met zowel de Nederlandse als Engelse syntax. Er zit ook een handige Nederlandse en Engelse woordenlijst voor statistische termen in.

De vijfde druk is een uitermate praktisch toepasbaar handboek voor de laboratoriumsetting en verdient wat mij betreft een plek op de boekenplank van ieder laboratorium. Het kan gebruikt worden als basis voor statistiekonderwijs voor de laboratoriumsetting en bijvoorbeeld als hulpmiddel voor het valideren of evalueren van laboratoriumassays. De stof die behandeld wordt, is zo uiteenlopend dat er voor ieder soort laboratorium iets te halen valt. Een klinisch microbiologisch laboratorium, dat volledig met commerciële assays werkt, zal bijvoorbeeld andere hoofdstukken nuttig vinden dan een commercieel productielaboratorium of een onderzoekslaboratorium. In mijn ogen maken de theoretische basis en praktische insteek dit boek nuttig voor zowel student, analist, onderzoeker als medisch specialist.

Elisabeth-TweeSteden Ziekenhuis, Tilburg,  
dr. J. Murk, arts-microbioloog.  
Correspondentieadres: j.murk@etz.nl.

# Serology Education

Jean-Luc Murk, namens de stichting Serology Education

De stichting Serology Education heeft als doel om kennis over infectieziektenserologie te verspreiden. De stichting werd in 2017 opgericht door Pieter Petit, Wim Ang en enkele collega-artsen-microbioloog van de NVMM. De directe aanleiding voor de oprichting was het faciliteren van de organisatie van de serologie-cursus, die sinds 2010 gemiddeld elke drie jaar gehouden wordt. Inmiddels zijn de activiteiten uitgebreid met de lancering en ontwikkeling van de website [www.serology-education.com](http://www.serology-education.com). Deze Engelstalige site wil de lezer ondersteunen bij de interpretatie van serologische uitslagen.

Om de website een goede start te geven zijn in eerste instantie met SKMS-subsidie en hulp van het Kennisinstituut, in nauwe samenwerking met het NVMM-bestuur, een aantal 'hoofdstukken' geschreven. Het betreft de hoofdstukken over de hepatitisvirussen, over bof, mazelen en rode hond en *Bordetella pertussis*. Op basis van het daarvoor ontwikkelde format worden steeds nieuwe onderwerpen toegevoegd. Voorafgaand aan plaatsing op de website wordt ieder hoofdstuk beoordeeld door de serologische experts van de stichting en daarna rondgestuurd aan NVMM-leden voor feedback en accordering. Het doel is om uiteindelijk voor ieder relevant humaan pathogeen een hoofdstuk te ontwikkelen. Omdat het aantal schrijvers nog beperkt is, staat de stichting meer dan open voor schrijvers van nieuwe hoofdstukken! Het schrijven van een hoofdstuk kan een mooi en nuttig onderdeel zijn van een serologiestage of studentenproject. Wie wil kan zich melden bij [serology.education@gmail.com](mailto:serology.education@gmail.com) of ondergetekende.

Ook dit jaar organiseerde de stichting in maart weer de serologiecursus. Op het programma stond een com-

pleet palet aan serologische onderwerpen en sprekers (zie de tabel hieronder).

Het streven is om de onderwerpen van deze voordrachten op betrekkelijk korte termijn door te vertalen naar nieuwe hoofdstukken op de website. We zijn blij met alle enthousiasme en steun voor het werk van de stichting. Zoals eerder opgemerkt houden we ons van harte aanbevolen voor nieuwe schrijvers of voor feedback op de bestaande hoofdstukken. Graag tot ziens of horens!

*Overzicht van onderwerpen en sprekers op de recente Serology Education serologiecursus (maart 2023).*

Immuunrespons en kinetiek	Wim Ang
Basistechnieken in de serologie	Jean-Luc Murk
TORCHES	Ann Vossen
Complexe casuïstiek + quiz	Wim Ang
Hepatitis A t/m E	Hans Zaaijer
<i>Toxocara</i> , <i>Trichinella</i> en echinokokken	Titia Kortbeek
Parasitaire infecties andere (Toxoplasma,...)	Rens Zonneveld
Indexen in de serologie: aviditeit en intrathecale antistofresponsbepalingen	Jean-Luc Murk, Karen Couderé
Neuroborreliose	Tamara van Gorkom
Uveïtis	Jolanda de Groot
Gisten en schimmels	Jochem Buil
Wrap-up, wat weten we nog niet	Wim Ang
IVDR en kwaliteitsbewaking	Richard Molenkamp
Exotische serologie (flavivirussen etc.)	Corine Geurts van Kessel
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (IGRA)	Jurriaan de Steenwinkel
<i>Rickettsia</i> -serologie	Corine Geurts van Kessel
Immuunresponsen in verschillende compartimenten	Jean-Luc Murk
Valkuilen binnen de serologie	Hans Zaaijer



**SEROLOGY EDUCATION**

a practical guide on serological diagnostics of infectious diseases

# Promoties

## 8 december 2022 - T. van Gorkom

Immunodiagnosics of Lyme Neuroborreliosis

Promotoren: prof. dr. J.T. van Dissel  
 Copromotores: dr. K. Kremer en dr. S.F.T. Thijsen  
 Rijkinstituut voor Volksgezondheid en Milieu,  
 Bilthoven  
 Diaconessenhuis, Utrecht

## 23 januari 2023 - J.A. Castillo Ramirez

Innate immune responses of monocytes/  
 macrophages to DENV-2 infection

Promotoren: prof. dr. J. de Smit en  
 prof. S. Urcuqui Inchima  
 Copromotor: Dr. I.A. Rodenhuis-Zybert  
 UMC Groningen, afd. Medische Microbiologie

## 13 februari 2023 - J. Herrera-Rodriguez

Strategies towards improved influenza vaccines

Promotoren: prof. dr. A.L.W. Huckriede en  
 prof. dr. J.C. Wilschut  
 UMC Groningen, afd. Medische Microbiologie

## 24 februari 2023 - K.S.J. Vanden Driessche

Prevention of tuberculosis and other infectious  
 diseases that spread through the air

Promotoren: prof. dr. R. de Groot en  
 prof. dr. G. Theron  
 Copromotor: dr. M.I. de Jonge  
 Radboud UMC Nijmegen, afd. Laboratorium  
 Medische Immunologie. Stellenbosch  
 University, South Africa

## 8 maart 2023 - H.A.B. Prins

Closing the gap to cure: Clinical strategies targeting  
 the HIV reservoir

Promotor: prof. dr. A. Verbon  
 Copromotores: dr. A. Rokx en dr. T. Mahmoudi  
 Erasmus MC Rotterdam, afd. Medische  
 Microbiologie & Infectieziekten en  
 afd. Inwendige Geneeskunde

## 12 april 2023 - W. Lim

Drug discovery and diagnostics for eumycetoma  
 caused by *Madurella mycetomatis*

Promotor: prof. dr. A. Verbon  
 Copromotor: dr. W.W.J. van de Sande  
 Erasmus MC Rotterdam, afd. Medische  
 Microbiologie & Infectieziekten

## 17 mei 2023 - Ellen Carbo

Metagenomic sequencing in clinical virology:  
 advances in pathogen detection and future prospects

Promotoren: prof. dr. A.C.M. Kroes  
 Copromotor: dr. J.J.C. de Vries en dr. I. Sidorov  
 Rijksuniversiteit Leiden  
 Leiden Universitair Medisch Centrum, afd. Medische  
 Microbiologie

Uitgegeven door  
de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie  
maart 2023

[www.nvmm.nl](http://www.nvmm.nl)