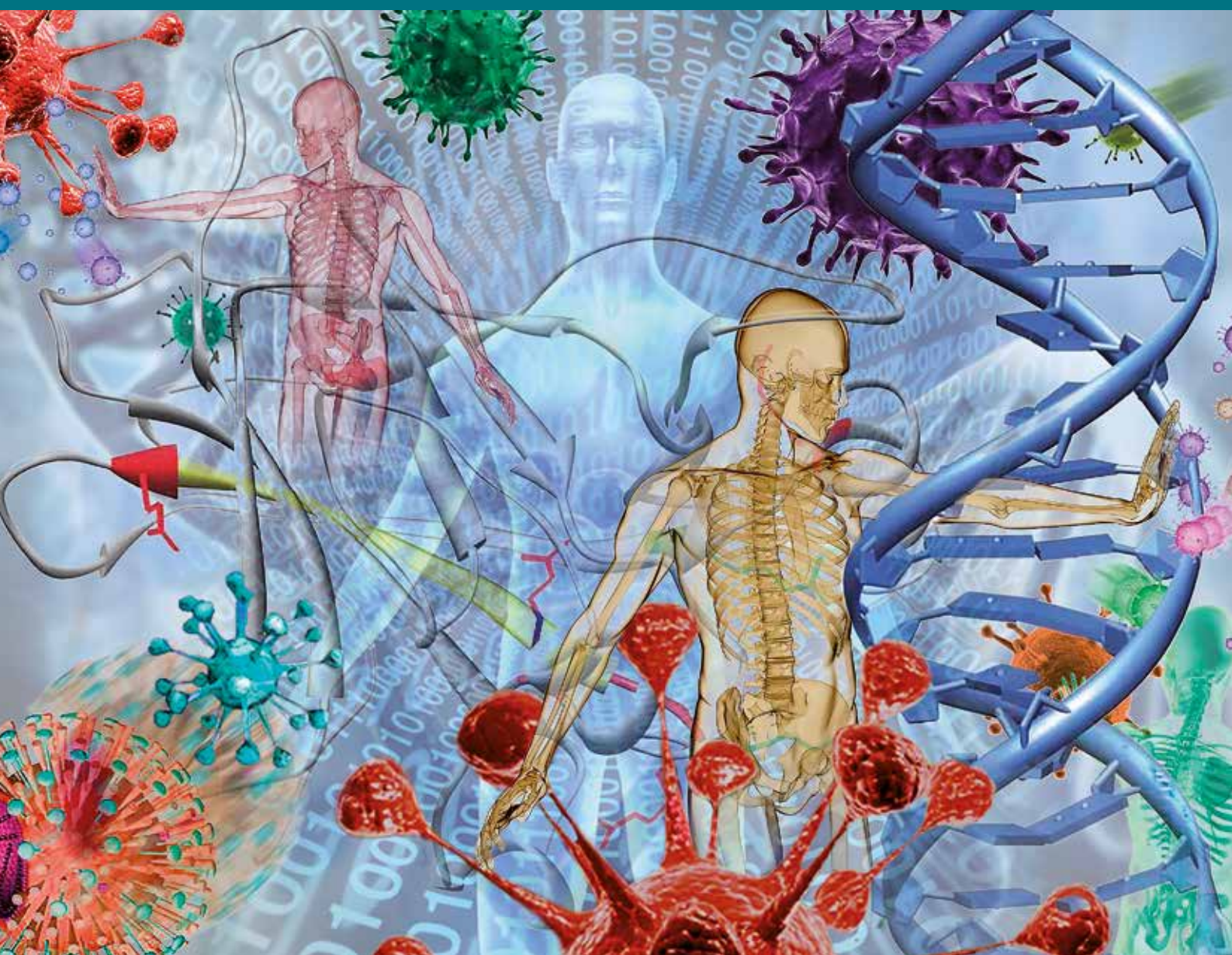


NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR MEDISCHE MICROBIOLOGIE



Thema auto-immuniteit

Nobelprijs voor de parasitologie

Het influenzaseizoen 2014/2015 in Nederland:
een zeer langdurige epidemie

Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie

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

NVMM-secretariaat

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

Hoofredactie

Mw. dr. E. Heikens, J.A. Kaan,
dr. L. Mulder

Redactie

Mw. dr. I.A.J.M. Bakker-Woudenberg,
J.M. van Hattum, mw. N. Hanemaaijer,
dr. J.J. van Hellemond, mw. M. Jager,
dr. J.S. Kalpoe, dr. B. Meek,
dr. M. Van Rijn, mw. A.T.R. Tholen,
dr. H.F.L. Wertheim, dr. R. te Witt

Redactiesecretariaat

Van Zuiden Communications B.V.
drs. R.B. Mouton-Verschoor
Tel. (0172) 476191, e-mail:
mouton@vanzuidencommunications.nl

Advertentie-exploitatie

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

Oplage en frequentie

900 exemplaren, 4 x per jaar

Abonnementen

Gratis voor leden van de NVMM en leden van de VIZ.
Niet-leden NVMM of VIZ in Nederland: € 67,- per jaar
Buiten Nederland, in Europa: 94,- per jaar
Losse nummers: 12,50
Opgave abonnementen:
Tel. (0172) 47 61 91



© 2015, Van Zuiden Communications B.V.

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

Algemene voorwaarden

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

ISSN 0929-0176

Inhoud

Van de redactie

Auto-immuniteit en infectie: devil in disguise of toch een blessing in disguise? 118
G.T. Rijkers

Transmissieroute

HPV *coming of age*: van vaccindoel tot screeningsmarker 119
M.C.W. Feltkamp

Thema: auto-immuniteit

Microbiële triggers bij ANCA-geassocieerde vasculitis 120
C.G.M. Kallenberg

Parasitaire worminfecties en auto-immuunziekten: over immuunhomeostase en immuuntherapie 126
A.J. Duits

De rol van het immuunsysteem in het ontstaan en het beloop van de ziekte van Lyme 131
J. Ursinus, S.W. Tas, M.C. Brouwer, L. Spanjaard, M.V. Starink, J.W.R. Hovius

Virale myocarditis 137
C. Herkert, J. Rijks, S.R.B. Heymans, M.R. Hazebroek

Campylobacter jejuni: van infectie naar Guillain-Barré-syndroom 144
A.P. Heikema, H.P. Endtz en B.C. Jacobs

Artikel

Het influenzaseizoen 2014/2015 in Nederland: een zeer langdurige epidemie 150
J.C. de Jong, G.A. Donker, A. Meijer, W. van der Hoek, M.M.A. de Lange, G.F. Rimmelzwaan, M.P.G. Koopmans

Samenvatting proefschrift

Staphylococcal leukocidin receptor identification: hiding in plain sight 157
A.N. Spaan

Ingezonden

Nobelprijs voor de parasitologie 158
W.A. Stolk, S.J. de Vlas

VRE: een BRMO of toch niet? Uitkomsten van een peiling onder deskundigen 159
M.A. Kusters-van Someren, J.W. Dorigo-Zetsma en J.A.J.W. Kluytmans

Columns

De rol van *Prevotella copri* bij reumatoïde artritis 161
M.J. de Graaf, E. Heikens en H. Leavis

Vernieuwingen communicatie en website NVMM 163
J.L. Murk

Verenigingsnieuws

Abstracts Najaarsvergadering NVMM / VIZ 2015 164

Cursusaankondigingen

136

Promoties

169

Toelichting bij coverbeeld: Het complexe geheel van (auto)-immuniteit.

Cover: Hans den Boer en Loes van Damme, Erasmus MC, afdeling medische Microbiologie & Infectieziekten, Postbus 2040, 3000 CA Rotterdam.

Auto-immuniteit en infectie: devil in disguise of toch een blessing in disguise?¹

Omdat we leven in een wereld omgeven door micro-organismen beschikt een mens over een immuunsysteem. Het verworven immuunsysteem herkent lichaamsvreemde structuren met een hoge mate van specificiteit, een specificiteit die door willekeurige recombinatie van gensegmenten van immuunglobulinen en T-celreceptorgenen tot stand komt. Vanwege de aard van dit proces zullen ook cellen met specifieke receptoren voor onderdelen van het eigen lichaam gevormd worden. Dit is een potentieel gevaarlijke situatie die vermeden dient te worden omdat ze zou kunnen leiden tot auto-immunziekten. Op twee niveaus worden autoreactieve cellen verwijderd, dan wel onder controle gehouden. In de thymus en het beenmerg, de organen waar respectievelijk de T- en B-lymfocyten aangemaakt worden, worden de lymfocyten die lichaamseigen antigenen herkennen vernietigd; activatie van deze cellen resulteert in apoptose. Activatie van autoreactieve T-lymfocyten kan ook leiden tot differentiatie tot regulatoire T-lymfocyten. Deze cellen houden andere autoreactieve T-lymfocyten (die aan negatieve selectie in de thymus zijn ontsnapt) en waarschijnlijk ook autoreactieve B-lymfocyten onder controle.

In de ideale wereld zou het immuunsysteem zich nooit tegen het eigen lichaam richten en zouden auto-immunziekten niet voorkomen. De werkelijkheid is helaas anders. 'Wat gaat er mis?' is dan ook de vraag die bij de opening van een themanummer over auto-immunziekten gesteld moet worden. De selectieprocessen in thymus en beenmerg zijn niet waterdicht. Autoreactieve T- en B-lymfocyten kunnen daardoor toch in de periferie terechtkomen. Wanneer controlemechanismen, zoals door regulatoire T-lymfocyten, tekortschieten of worden omzeild kan dit leiden tot auto-immuniteit. In dit themanummer van het NTMM staat de relatie tussen infectie en auto-immunziekten centraal. Een infectie kan het uitlokkende moment zijn voor een auto-immunreactie of zelfs auto-immunziekte ('devil in disguise'). Bekend is natuurlijk dat de polyklonale activatie van B-lymfocyten tijdens een acute EBV-infectie kan leiden tot (tijdelijke) productie van autoantilichamen. Maar er is meer, veel meer en de meeste bijdragen in dit themanummer staan vol nieuwe informatie over dit fascinerende veld. En als nieuwe gegevens nog ontbreken, dan geven nieuwe gezichtspunten in ieder geval voldoende stof tot nadenken. Een infectie, of breder geformuleerd: expositie aan micro-organismen, kan ook gunstige effecten hebben op de

ontwikkeling en functie van het immuunsysteem. De infectie is dan een 'blessing in disguise'. In een prachtig artikel van het laboratorium van Mark Davis over dit onderwerp wordt daarbij tevens gezaagd aan de fundamenteën van de immunologie: het ontstaan van antigeenspecifieke geheugen-CD4⁺T-lymfocyten.¹ Uit dat onderzoek blijkt dat volwassenen die nog nooit met hiv in contact zijn geweest, toch hiv-specifieke geheugen-CD4⁺T-lymfocyten bezitten. Hetzelfde geldt voor CMV, HSV en dergelijke. De verklaring moet worden gezocht in de darm. Commensale micro-organismen in de darm (waaronder bifidobacteriën en rumino-kokken) exprimeren eiwitten met sequentiehomologie met eerdergenoemde virussen: moleculaire mimicry. Terecht concluderen de onderzoekers dat de vraag gesteld moet worden of de vorming van deze geheugen-CD4⁺T-lymfocyten bijdraagt aan de gezondheid (blessing) of in potentie ook schadelijke gevolgen kan hebben (devil).¹

De commensale micro-organismen in de darm hebben nog een andere functie: ze dragen bij aan een gereguleerde ontwikkeling van het immuunsysteem. In diersmodellen hebben Kasper en Mazmanian heel mooi de rol van *Bacteroides fragilis* laten zien. Deze bacterie, en specifiek het polysaccharide A, is onontbeerlijk voor uitrijping van regulatoire T-lymfocyten.^{2,3} Andere commensale micro-organismen met een gezondheidsbevorderend effect (probiotica) hebben eveneens een modulerend effect op het mucosale immuunsysteem van de darm.⁴

We leven in een wereld omgeven door micro-organismen. De succesvolste aminozuurcombinaties voor een bepaalde eiwitfunctie zijn gedurende de evolutie vrijwel gelijk gebleven. Een specifieke respons van het immuunsysteem tegen deze (geconserveerde) sequenties kan zich dus keren tegen het eigen lichaam. Brilljante wetenschappers zoals Cohen beschreven dit al lang geleden.⁵ Decennialang zijn zij roepende in de woestijn geweest (Irun Cohen ook letterlijk, vanuit het Weizmann Institute in de Negev). De interactie tussen micro-organismen en immuunsysteem heeft ook vele gunstige effecten. Na een zeer lange periode van stagnatie bevindt deze tak van de immunologie zich momenteel in de exponentiële fase, zoals blijkt uit dit themanummer.

Ger T. Rijkers, afdeling Sciences, University College Roosevelt, Middelburg en afdeling Medische Microbiologie en Immunologie, St Antonius Ziekenhuis, Nieuwegein

¹De referenties staan op pagina 163.

HPV *coming of age*: van vaccin tot screeningsmarker

M.C.W. Feltkamp

Vaccinatie tegen HPV vormt een belangrijke pijler onder de preventie van baarmoederhalskanker. Met de geplande herinrichting van het bevolkingsonderzoek zal ook het screeningsprogramma zich gaan richten op HPV. Gezien onze expertise op het gebied van infectiepreventie en -diagnostiek ligt het voor de hand dat de medische microbiologie een bijdrage levert aan de inrichting van dit nieuwe bevolkingsonderzoek en de aansluiting daarvan op het bestaande vaccinatieprogramma.

Traditioneel vindt HPV-diagnostiek in Nederland plaats bij de pathologie. Dat specialisme heeft zich bekwaamd in de detectie van oncogene weefselveranderingen en heeft HPV als tumormarker geïncorporeerd in de diagnostiek van HPV-gerelateerde afwijkingen. Hoewel er wel eens stemmen opgaan om deze 'aberratie' recht te zetten, denk ik dat de pathologen zich uitstekend van deze taak kwijten. De toegevoegde waarde van de medische microbiologie bij het inrichten van het nieuwe bevolkingsonderzoek bestaat naar mijn idee vooral uit onze specifieke microbiologische en epidemiologische kennis van (HPV-) infecties in het algemeen, en onze expertise op (moleculair) infectiediagnostisch gebied in het bijzonder. Als lid van de programma-commissie Bevolkingsonderzoek Baarmoederhalskanker is mij de afgelopen jaren duidelijk geworden wat de toegevoegde waarde hiervan in de praktijk is.

Een van de eerste taken die ik mijzelf stelde was het Centrum voor Bevolkingsonderzoek (CVB) te overtuigen van het feit dat HPV niet zomaar een tumormarker is, maar een dynamische entiteit met een intrinsieke hang naar aanpassing in tijden van onderdrukking. Weliswaar heeft HPV van nature een lage mutatiefrequentie en duurt het doorgaans jaren voordat een HPV-infectie tot kanker leidt, toch zal je met het opvoeren van de selectiedruk ten gevolge van (mondiale) HPV-vaccinatie een vinger aan de pols moeten houden. Het bevolkingsonderzoek zou daarom moeten kunnen monitoren in hoeverre de ingevoerde screeningstest de oncogene HPV-typen aanwezig in de tumoren nog detecteert, net zoals de samenstelling van een vaccin wordt afgezet tegen de circulerende virus- en bacteriestammen.

Tevens vond ik dat er met een frisse blik gekeken moest worden naar de te implementeren moleculaire HPV-screeningstest als vervanging van de primaire

cytologische screening. Naast een hoge klinische sensitiviteit, waarbij met name CIN2+ laesies moeten worden gedetecteerd en niet laaggradige, passagere HPV-infecties, zou deze test moeten kunnen genotyperen en beschikken over een 'interne controle'. Deze eigenschappen waren niet altijd aanwezig in de meest gangbare HPV(-triage) testsystemen. Gebruik van een interne controle kan behalve technische garanties namelijk ook de afwezigheid van 'klinisch' materiaal signaleren, wat met de invoering van het optionele 'zelf-afname' uitstrijkje relevanter wordt. Op basis van het gezondheidsraadadvies "Screenen op Baarmoederhalskanker" dat is uitgewerkt door diverse werkgroepen waarin ook NVMM-leden, is het CvB nu gekomen tot een nieuwe opzet voor het bevolkingsonderzoek. Daarin is gelukkig gekozen voor vijf screeningslaboratoria, en niet voor één superlab waar ook wel sprake van was, waardoor er oog blijft voor regionale, epidemiologische trends. De aanbesteding van de screeningslaboratoria, die ook confirmatiecytologie moeten kunnen uitvoeren, is momenteel in volle gang. Als HPV-screeningstest is recent gekozen voor de Cobas, die onderscheid maakt tussen HPV16, HPV18 en overige hoog-risico-HPV-typen en daarnaast beschikt over een interne controle. Nu is het nog zaak dat de HPV-prevalentie- en genotyperingsdata uit beide programma's gebruikt kunnen worden om zowel de vaccin- als de screeningsdekking te kunnen monitoren. Maar bovenal is het cruciaal dat publiek én professionals HPV omarmen als sensitieve en betrouwbare marker in de vroege opsporing van baarmoederhalskanker.

De volgende Transmissieroute wordt geschreven door dr. A.C.G. Voordouw, AIOS aan het Laboratorium Medische Microbiologie, LUMC en senior klinisch beoordelaar infectieziekten College ter Beoordeling van Geneesmiddelen (CBG).

Correspondentieadres: M.C.W. Feltkamp, medisch viroloog en associate professor, Afd. Medische Microbiologie LUMC, e-mail: m.c.w.feltkamp@lumc.nl

Microbiële triggers bij ANCA-geassocieerde vasculitis

C.G.M. Kallenberg

Samenvatting

ANCA-geassocieerde vasculitiden (AAV) zijn idiopathische systemische auto-immuunziekten gekenmerkt door necrotiserende vasculitis van kleine en middelgrote bloedvaten en de aanwezigheid van autoantistoffen tegen proteinase 3 (PR₃) en myeloperoxidase (MPO), enzymen aanwezig in neutrofiële granulocyten en monocyten. Deze auto-immunresponsen zijn zeer vermoedelijk essentieel in de pathogenese van AAV. De oorzaak is echter niet bekend, maar chronisch dragerschap van *Staphylococcus aureus* in de neus leidt tot een sterk verhoogde kans op opvlammingsen van de ziekte en profylactische behandeling met co-trimoxazol voorkomt dit. Experimenteel onderzoek suggereert verschillende mechanismen waarlangs de reactivatie kan plaatsvinden, onder andere immuunstimulatie via superantigenen van *S. aureus*. Mogelijk kunnen antistoffen tegen PR₃ ook worden gegenereerd via moleculaire gelijkheid tussen een anti-sensepeptide van PR₃ en peptiden van *S. aureus*. Dan zou infectie met *S. aureus* ten grondslag kunnen liggen aan PR₃-ANCA geassocieerde vasculitis. Ook zijn bij AAV met nierbetrokkenheid autoantistoffen beschreven tegen LAMP2, een lysosoom geassocieerd membraaneiwit. Ook hier zouden deze autoantistoffen kunnen ontstaan door moleculaire gelijkheid met peptiden van fimbriae van bacteriën. Experimenteel onderzoek suggereert ook hier dat deze anti-LAMP2-antistoffen pathogeen zijn, maar bevestiging van deze observaties moet nog plaatsvinden. Samenvattend lijken bacteriële factoren een rol te spelen bij inductie en reactivatie van AAV.

Summary

ANCA-associated vasculitides (AAV) are idiopathic systemic autoimmune diseases characterized by necrotizing vasculitis of small and medium-sized bloodvessels in combination with the presence of autoantibodies to proteinase 3 (PR₃) and myeloperoxidase (MPO), enzymes present in neutrophils and monocytes. The autoimmune responses, in all likelihood, underly the pathogenesis of AAV. The etiology of these diseases is, however, not known, but chronic nasal carriage of *Staphylococcus aureus*

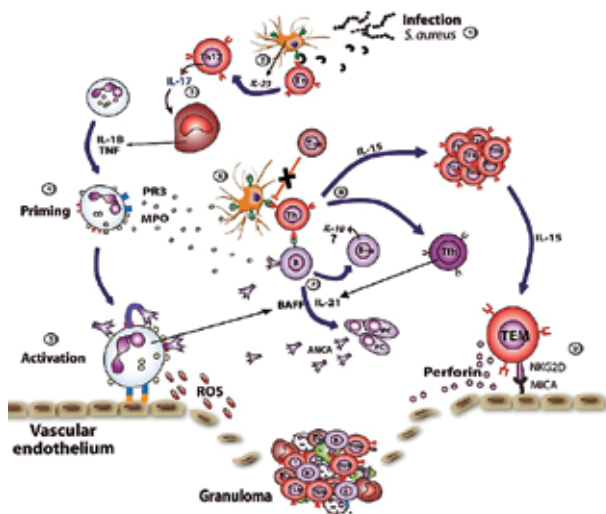
is associated with a strongly increased risk for relapses of the disease and prophylactic treatment with co-trimoxazole prevents relapses. Experimental studies suggest different mechanisms explaining how *S. aureus* induces disease reactivation, amongst others immune stimulation via superantigens of *S. aureus*. Possibly, autoantibodies against PR₃ can be generated via molecular mimicry between an anti-sense peptide of PR₃ and peptides of *S. aureus*. If this is true, infection with *S. aureus* would underly the development of PR₃-ANCA associated vasculitis. In addition, autoantibodies are described in AAV with renal involvement that are directed against LAMP2, a lysosome associated membrane protein. Here also these autoantibodies could be generated via molecular mimicry with peptides from bacterial fimbriae. Experimental studies suggest a pathogenic role also for these autoantibodies, but confirmation of these observations is awaited. In summary, bacterial factors seem to play a role in the induction and reactivation of AAV.

Introductie

ANCA-geassocieerde vasculitis (AAV) is een groep van aandoeningen die wordt gekenmerkt door vasculitis van voornamelijk de kleinere bloedvaten in combinatie met de aanwezigheid van autoantistoffen tegen cytoplasmatische bestanddelen van neutrofiële granulocyten (ANCA). AAV omvat een drietal aandoeningen. Allereerst granulomatosis met polyangiitis (GPA, voorheen bekend als de ziekte van Wegener) waarbij, naast vasculitis van de kleine bloedvaten met vaak ook betrokkenheid van de nieren, granulomateuze ontsteking optreedt, in het bijzonder in de bovenste en onderste luchtwegen; ANCA zijn hier vooral gericht tegen het enzym proteinase-3 (PR₃-ANCA). Vervolgens onderscheiden we microscopische polyangiitis (MPA), eveneens gekenmerkt door vasculitis van de

C.G.M. Kallenberg, afdeling Reumatologie en Klinische Immunologie, Universitair Medisch Centrum Groningen, e-mail: : c.g.m.kallenberg@umcg.nl

Figuur 1. Overzicht van de componenten van het aangeboren en verworven immuunsysteem die mogelijk betrokken zijn bij het ontstaan van ANCA-geassocieerde vasculitis.



(1) Peptidoglycaan en superantigenen van *S. aureus* activeren antigeen presenterende cellen (APCs) tot (2) de productie van interleukine (IL)-23, een cytokine dat nodig is voor de ontwikkeling van een Thelper-17 cel fenotype. (3) IL-17, vrijkomend uit geactiveerde Th-17-cellen, induceert het vrijkomen van de pro-inflammatoire cytokines TNF α en IL-1 β uit macrofagen. (4) Deze pro-inflammatoire cytokines induceren enerzijds de translocatie van de autoantigenen (PR3 en MPO) naar het oppervlak van de neutrofiel en verhogen anderzijds de expressie van adhesiemoleculen op zowel het vasculaire endotheel als op de geprimede neutrofiel. (5) Geprimede neutrofielen worden zo gerecrueteerd naar de plaats van inflammatie en adhereren aan het vasculaire endotheel. Deze adherente neutrofielen, die PR3 of MPO op hun oppervlak tot expressie brengen, worden vervolgens door binding van ANCA tot volledige activatie gebracht leidend tot productie van zuurstof radicalen en het vrijkomen van proteolytische enzymen met beschadiging van het endotheel. (6) PR3 of MPO dat vrijkomt uit geactiveerde neutrofielen, kan worden geïnternaliseerd door antigeen presenterende cellen (APC) en vervolgens worden gepresenteerd aan helper T-cellen (Th). Aangezien regulatoire T-cellen (Treg) en mogelijk ook regulatoire B-cellen (Breg) onvoldoende functioneren, gaat de auto-immuunrespons verder waarbij B-cellen differentiëren tot ANCA-producerende plasmacellen terwijl Th-cellen zich ontwikkelen tot Thelper-17 cellen (Th17) en folliculaire helper T-cellen (Tfh), en verder expanderen tot effector memory-cellen (T_{EM}). (7) Activatie van neutrofielen door ANCA kan ook leiden tot het vrijkomen van BAFF (B-cel activerende factor). BAFF bevordert de overleving van autoreactieve B-cellen en stimuleert, tezamen met IL-21 geproduceerd door Tfh, de differentiatie tot plasmacellen. (8) IL-15, wat verhoogd tot expressie komt bij patiënten met AAV, kan de expansie bevorderen van T_{EM} met het cytotoxische fenotype CD4⁺ NKG2D⁺. (9) Bij activiteit van de ziekte komt op het oppervlak van de endotheelcellen de ligand voor NKG2D, namelijk MIC-A, tot expressie waardoor de cytotoxische T_{EM} hieraan kunnen binden. Deze binding leidt tot verdere activatie en via perforines en granzymes lysis van de endotheelcellen. Naast directe schade aan het endotheel draagt dit ook bij aan de vorming van granulomen. Uit referentie 5, met toestemming.

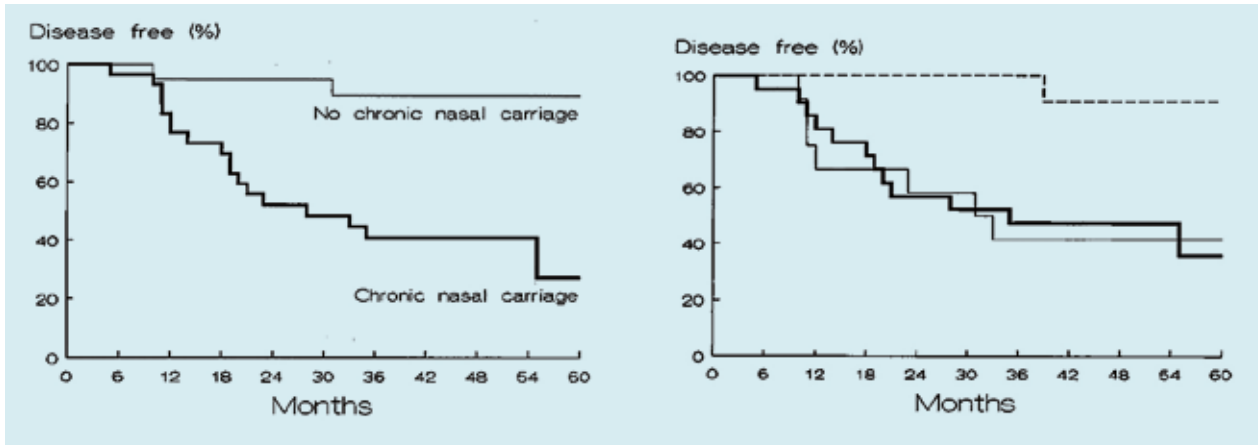
kleine bloedvaten, vooral optredend in de nieren en daarnaast in de longen, maar waarbij granulomateuze ontsteking ontbreekt; ANCA zijn hier vooral gericht tegen het enzym myeloperoxidase (MPO-ANCA). Soms blijft het ziektebeeld beperkt tot de nieren. De nierafwijkingen bij AAV worden gekenmerkt door fibrinoïde necrose in capillaire lussen met vaak halve-maantvorming in de glomeruli, de zogenoemde necrotiserende crescentische

glomerulonefritis (NCGN), waarbij immuundeposities in de glomeruli veelal ontbreken (pauci-immuun). De derde categorie van AAV betreft eosinofiele granulomatosis met polyangiitis (EGPA, voorheen aangeduid als ziekte van Churg-Strauss), waarbij bloedeosinofilie en (een geschiedenis van) astma voorkomt naast vasculitis van kleine bloedvaten en granulomateuze ontsteking die een sterke infiltratie van eosinofiele granulocyten laat zien; ANCA zijn hier eveneens gericht tegen MPO, maar zo'n 40 tot 50 procent van de patiënten met EGPA zijn negatief voor ANCA. Bij de EGPA-patiënten die positief zijn voor ANCA staat de vasculitis voorop in het klinisch beeld terwijl bij de ANCA-negatieve patiënten weefselinfiltratie met eosinofiele granulocyten het klinisch beeld domineren.^{1,2} Zoals tabel 1 laat zien, zijn vrijwel alle patiënten met bovengenoemde ziektebeelden positief voor ANCA. Dit doet vermoeden dat ANCA betrokken zijn bij de pathofysiologie van AAV. In-vitro studies laten inderdaad zien dat ANCA neutrofiel granulocyten kunnen activeren tot lysis van endotheelcellen. Diermodellen voor MPO-ANCA-geassocieerde vasculitis laten eveneens de directe pathogeniciteit van MPO-ANCA zien voor het ontstaan van necrotiserende vasculitis. Diermodellen voor PR3-ANCA-geassocieerde vasculitis laten wel vasculitis van de kleine bloedvaten zien maar geen granulomateuze ontstekingen. Naast PR3-ANCA lijken auto-immuun T-celreacties van belang bij de pathofysiologie van PR3-ANCA-geassocieerde vasculitis.^{3,5} Een schematische voorstelling van deze pathofysiologie is weergegeven in *figuur 1*. Hoewel tegenwoordig veel bekend is over de pathofysiologie van AAV, is de oorzaak van deze aandoeningen nog geenszins opgehelderd. Ook is niet duidelijk welke factoren leiden tot opvlamming van deze ziekten. Immers, deze auto-immuunvasculitiden kunnen, nadat remissie is geïnduceerd met immunosuppressieve medicatie, weer opvlammingen vertonen, meer bij GPA dan bij MPA. In deze bijdrage wordt de rol van microbiële factoren bij de expressie van AAV besproken.

AAV en *Staphylococcus aureus*

De eerste observatie dat microbiële factoren betrokken zijn bij AAV, en in het bijzonder bij GPA, werd gedaan door Stegeman. Hij observeerde dat 60 tot 70 procent van de GPA-patiënten chronische neusdragers zijn van *S. aureus*. Chronisch dragerschap was bovendien sterk geassocieerd met het optreden van opvlammingen van de ziekte met een relatief risico van 9,0 (*figuur 2*). Het persisteren van ANCA na inductie van remissie bleek een net zo grote risicofactor voor het optreden van opvlammingen.⁶ Dit doet vermoeden dat persisteren van ANCA gerelateerd is aan het chronisch dragerschap van *S. aureus*. Bovendien bleek dat profylactische behandeling van GPA-patiënten met co-trimoxazol het optreden van opvlammingen met 60 procent deed dalen.⁷ Recent bleek dat monotherapie met

Figuur 2. Ziektevrij interval en carrier status van *Stafylococcus aureus* (links) en ANCA status (rechts).



Links: Het ziektevrije interval van 57 patiënten met GPA is gegroepeerd naar de *S. aureus* status. De periode van het ziektevrije interval is berekend vanaf het begin van de meest recente periode van ziekteactiviteit (initiële diagnose of opvlamming; $p < 0,001$).

Rechts: Het ziektevrije interval van 54 patiënten is gegroepeerd naar het beloop van ANCA gedurende de studie. De periode van het ziektevrije interval is berekend vanaf het begin van de meest recente periode van ziekteactiviteit (initiële diagnose of opvlamming). ANCA-negatief versus intermitterend of persistent positief voor ANCA, $p < 0,001$.

Gestippelde lijn = ANCA-negatief ($n = 21$); brede lijn = intermitterend ANCA-positief ($n = 21$); dunne lijn = persistent ANCA-positief ($n = 12$).

Uit referentie 6, met toestemming.

co-trimoxazol bij GPA-patiënten bij wie de ziekte beperkt was tot de luchtwegen leidde tot remissie van de ziekte bij 35 van 49 (71 procent) patiënten.⁸

De eerste vraag bij deze observaties is waarom GPA-patiënten zo'n sterk verhoogd dragerschap vertonen van *S. aureus*. Onduidelijk is of dragerschap voorafgaat aan het ontstaan van de ziekte. Anderzijds kan beschadiging van het respiratoir epitheel door de ziekte mogelijk aanleiding geven tot kolonisatie met *S. aureus* als gevolg van verminderde lokale beschermingsmechanismen. Hui et al.⁹ bepaalden spiegels van de antimicrobiële peptiden LL-37 en hBD-3 in nasale secreten van patiënten met GPA en gezonde controles. Hoewel zij bij zowel GPA-patiënten

als gezonde controles die drager waren van *S. aureus* hogere spiegels van deze peptiden vonden vergeleken met GPA-patiënten en gezonde controles die geen drager van *S. aureus* waren, bleken binnen de groepen van dragers de patiënten een lagere respons te vertonen dan de controles wanneer hun nasale epitheliale cellen ex vivo werden gestimuleerd met *S. aureus*. Tevens werd door dezelfde groep onderzoekers aangetoond dat nasale epitheliale cellen van GPA-patiënten in vergelijking met gezonde controles na stimulatie met *S. aureus* een verminderde secretie van interleukine-8 vertonen, een cytokine dat belangrijk is voor de mobilisatie van granulocyten.¹⁰ Er lijkt dus sprake van een lokaal verminderde niet-specifieke afweer (*innate immunity*/

Tabel 1. Specificiteit van ANCA bij patiënten met ANCA-geassocieerde vasculitis uit het cohort van het Universitair Medisch Centrum Groningen.

Diagnose	PR3-ANCA	MPO-ANCA	Elastase-ANCA	ANCA-negatief	Percentage patiënten met ANCA
GPA (n = 364)	323	25	4	12*	96
MPA (n = 85)	16	67	1	1	98
NCGN (n = 54)	4	47	1	2	94
EGPA (n = 36)	0	23	0	13	64

*10 van deze 12 patiënten hadden GPA beperkt tot het KNO-gebied

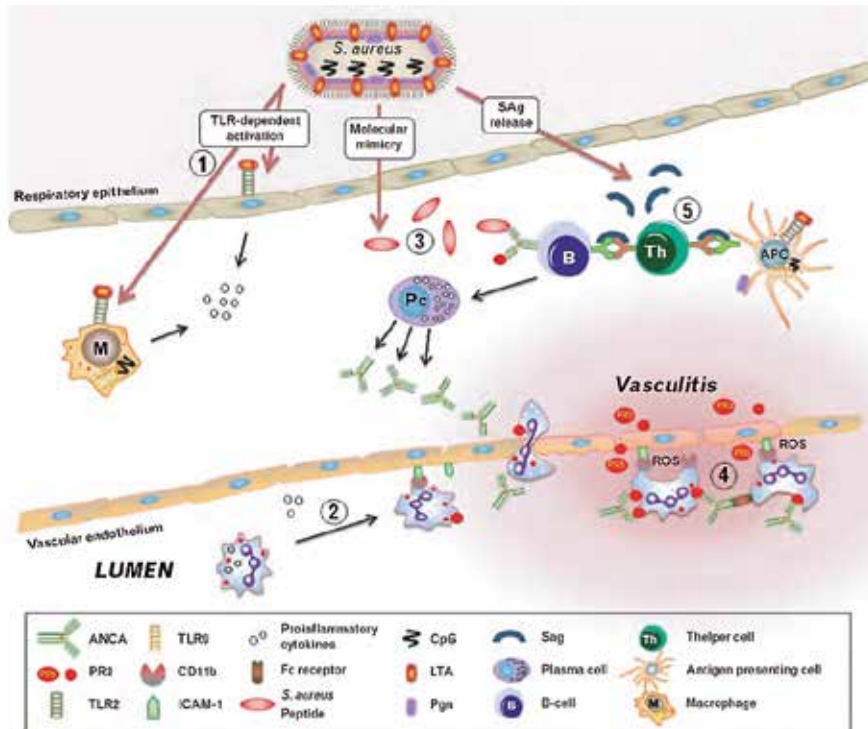
GPA = granulomatosis met polyangiitis

MPA = microscopische polyangiitis

NCGN = necrotiserende crescentische glomerulonefritis, een vorm van MPA beperkt tot de nieren

EGPA = eosinofiele granulomatosis met polyangiitis

Figuur 3. Mogelijke mechanismen waarlangs *Stafylococcus aureus* de ziekte GPA kan induceren of doen opvlammen.



(1) *S. aureus*, aanwezig in de neus, prikkelt het respiratoire epitheel en tevens, via Toll-like-receptoren (TLR), cellen van het aangeboren afweersysteem (zoals monocyten, macrofagen en mestcellen), tot het vrij maken van pro-inflammatoire cytokines. De mogelijk hierbij betrokken liganden voor de TLRs zijn de bacteriële celwandcomponenten lipoteichoïne zuur (LTA) en peptidoglycaan (Pgn), beide TLR type 2-liganden, en CpG-DNA (TLR type 9-ligand). (2) De geproduceerde pro-inflammatoire cytokines zullen enerzijds neutrofiële cellen 'primen' waarbij het autoantigeen PR₃ naar de celmembranen wordt verplaatst en anderzijds expressie van adhesiemoleculen verhogen op vasculaire endotheelcellen en geprimeerde neutrofielen. Als gevolg hiervan adhereren neutrofielen aan het endotheel en migreren naar de plaats van ontsteking. (3) Een dergelijke pro-inflammatoire omgeving faciliteert een doorbraak van tolerantie tegen PR₃, mogelijk via moleculaire gelijkenis van *S. aureus* (of andere microbiële) peptiden met het autoantigeen PR₃, leidend tot de productie van antistoffen tegen PR₃ (PR₃-ANCA). (4) PR₃-ANCA induceren volledige activatie van geprimeerde neutrofielen, resulterend in degranulatie, het vrijkomen van lytische enzymen, en de productie van zuurstofradicalen, hetgeen schade aan het endotheel veroorzaakt. (5) Superantigenen van *S. aureus* (SAGs) kunnen B- en T-cellen op een antigeenafhankelijke wijze stimuleren via binding tussen HLA-klasse 2 moleculen op antigeen presenterende cellen (ook PR₃-specifieke B-cellen kunnen als zodanig functioneren) en de variabele β-regio van de T-celreceptor (TCR-Vβ). SAGs kunnen ook T-cellen induceren tot differentiatie in bepaalde subsets. Los van SAGs kunnen ook andere eiwitten van *S. aureus*, zoals bv. proteïne A uit de bacteriële celwand, B-cellen activeren.

Uit referentie 23, met toestemming

aangeboren immuniteit) bij patiënten met GPA. Daarnaast vonden wij recent dat patiënten met GPA die drager waren van *S. aureus* lagere waarden van IgG-antistoffen gericht tegen 59 verschillende *S. aureus*-antigenen vertoonden in vergelijking met *S. aureus*-dragende gezonde controles.¹¹ Tevens bleek in deze studie dat de *S. aureus*-populatie bij patiënten en controles zeer divers is en onderling niet veel verschilt. Er is dus niet zo zeer een specifieke *S. aureus*-stam die verantwoordelijk is voor het dragerschap, maar veeleer een verminderde lokale en systemische immuunrespons tegen *S. aureus* bij patiënten met GPA. Dit lijkt een specifiek defect aangezien totale IgG-spiegels en vaccinatieresponsen tegen het influenzavirus niet verschillen tussen patiënten en controles.¹²

De tweede vraag betreft de mechanismen waarlangs *S. aureus*-dragerschap kan leiden tot reactivatie of mogelijk zelfs inductie van de ziekte. Zoals eerder aangegeven

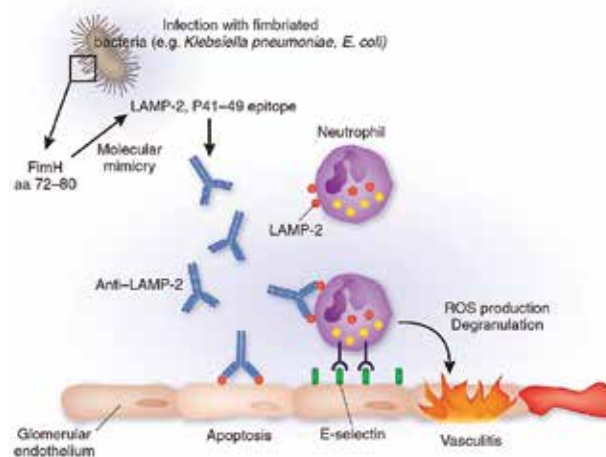
kunnen ANCA granulocyten activeren. Hiervoor moeten granulocyten echter eerst zijn 'geprimeerd', een proces van geringe activatie waarbij de doelantigenen van ANCA, namelijk PR₃ en MPO, op de celmembranen van de granulocyten tot expressie komen en zo toegankelijk zijn voor binding van ANCA (figuur 1). Deze 'priming' van granulocyten ontstaat al in aanwezigheid van geringe hoeveelheden pro-inflammatoire cytokines. Chronisch dragerschap van *S. aureus* in de neus zou aanleiding kunnen geven tot het lokaal vrijkomen van geringe hoeveelheden van deze cytokines, wat dan tot lokale en vervolgens systemische activatie van het ziekteproces zou kunnen leiden. Anderzijds is gebleken dat het oligonucleotide CpG uit bacterieel DNA neutrofiële granulocyten kan primen, een proces dat verder wordt versterkt in aanwezigheid van een geringe hoeveelheid tumornecrosis-factor (TNF)-α (Tadema, ongepubliceerd).

Een tweede mechanisme betreft de stimulatie van de auto-immuunrespons door superantigenen aanwezig in *S. aureus*. Superantigenen binden aan HLA-klasse II-moleculen buiten de groeve van het klasse II-molecuul waar peptiden binden, terwijl zij tevens binden aan geconserveerde regio's van de V β -keten van de T-celreceptor. Hierdoor worden groepen van T-cellen die een bepaalde V β -keten tot expressie brengen op niet antigeen-specifieke wijze gestimuleerd. Op deze wijze kan T-celactivatie plaatsvinden resulterend in hulp aan ANCA-specifieke B-cellen en tevens activatie en proliferatie van effector T-cellen (figuur 3). Popa en collega's konden echter niet aantonen dat de aanwezigheid van specifieke superantigenen gerelateerd was aan expansie van specifieke T-celsubsets in het perifere bloed,¹³ hoewel dit niet uitsluit dat lokale activatie plaatsvindt. Wel vonden zij dat het risico op opvlamming van de ziekte werd gemoduleerd door de aanwezigheid en het type superantigeen van *S. aureus* waarbij het toxic-shock-syndroom-toxine 1 (TSST-1) geassocieerd was met een sterk toegenomen risico op opvlamming (RR 13,5, 95-procent-betrouwbaarheidsinterval 4,2 tot 42,6).¹⁴ Abdulahad en collega's vonden recent dat vooral interleukine-21 producerende CD4-positieve T-cellen werden gestimuleerd door TSST-1 (ongepubliceerd). Dit was niet het geval voor andere superantigenen van *S. aureus*. Dit is interessant aangezien IL-21 een bijzonder krachtig cytokine is dat zowel B-cellen, effector T-cellen (CD4- en CD8-positieve T-cellen) als natural killer-cellen activeert.¹⁵

Een derde mechanisme betreft de rol van *S. aureus*-antigenen bij de inductie van (PR3)-ANCA. Bepaalde peptiden van *S. aureus* vertonen sterke homologie met complementair PR3. Complementair PR3 is het antisense-eiwit van PR3. Immunisatie van muizen met een regio uit complementair PR3 dat sterke gelijkenis vertoont met bepaalde *S. aureus*-peptiden, leidde tot de ontwikkeling van niet alleen antistoffen tegen complementair PR3 maar ook van antistoffen tegen PR3 zelf, waarschijnlijk op basis van zogenaamde idiootype/anti-idiotype-responsen.¹⁶ Immers, complementair PR3 is een spiegelbeeld van PR3, zodat antistoffen die zijn gericht tegen de antigeenbindende structuur van anti-complementair PR3 (het idiootype) dan gericht zullen zijn tegen PR3 zelf (anti-idiotypische antistof). Ook bij patiënten met GPA werden antistoffen tegen complementair PR3 aangetoond, hetgeen echter door ons niet kon worden bevestigd.¹⁷

Samenvattend is er een duidelijke relatie tussen dragerschap van *S. aureus* en activatie van GPA. Het sterk verhoogd dragerschap van *S. aureus* bij deze aandoening lijkt samen te hangen met een verminderde (lokale en systemische) afweer tegen *S. aureus*. Langs welke wegen dragerschap van *S. aureus* tot reactivatie van de ziekte leidt is niet geheel duidelijk, maar verschillende mechanismen zouden hierbij dus een rol kunnen spelen.

Figuur 4. Infectie met bacteriën met fimbriae leidt tot de vorming van antistoffen tegen een epitoot die gedeeld wordt door het bacteriële adhesiemolecuul FimH en het humane LAMP-2.



Autoantistoffen tegen LAMP-2 binden aan neutrofielen en activeren deze cellen leidend tot vorm veranderingen en degranulatie. Autoantistoffen tegen LAMP-2 binden bovendien aan glomerulaire endothelcellen wat resulteert in de verhoogde expressie van E-selectine en tenslotte tot apoptose van deze cellen. Dit geheel leidt tot beschadiging van de glomerulaire capillaire lissen voortschrijdend tot focale necrotiserende glomerulonefritis.

Uit referentie 24, met toestemming.

AAV en het bacteriële adhesine FimH

Naast ANCA zijn autoantistoffen beschreven bij AAV die gericht zijn tegen het humane lysosoom geassocieerde membraaneiwit-2 (hLAMP2). Deze antistoffen werden eerst beschreven als voorkomend bij bijna alle patiënten met AAV die betrokkenheid van de nieren in het ziekteproces hadden.¹⁸ In een latere studie lieten dezelfde onderzoekers zien dat injectie van ratten met anti-LAMP2-antistoffen leidde tot focale necrotiserende glomerulonefritis (FNGN).¹⁹ Een monoclonale antistof tegen hLAMP2 induceerde apoptose van humaan microvasculair endotheel in vitro.¹⁹ Autoantistoffen van patiënten met FNGN herkennen veelal een humane LAMP2-epitoot die 100 procent homologie laat zien met het bacteriële adhesine FimH dat voorkomt op gram-negatieve bacteriën die fimbriae dragen.¹⁹ Een volgende interessante bevinding was dat ratten die werden geïmmuniseerd met FimH, antistoffen tegen rat- en humaan LAMP2 ontwikkelden en tevens pauci-immune FNGN. Deze studies laten zien dat moleculaire mimicry tussen een autoloog en een bacterieel peptide ten grondslag kan liggen aan de ontwikkeling van autoantistoffen die vermoedelijk pathogeen zijn en leiden tot het ontstaan van FNGN (figuur 4). De auteurs suggereren verder dat infecties met pathogene bacteriën die fimbriae dragen voorafgaan aan de ontwikkeling van FNGN als onderdeel van AAV, maar deze gegevens zijn niet erg sterk.¹⁹ De aanwezigheid van

antistoffen tegen hLAMP2 werd bevestigd in drie cohorten van patiënten met AAV uit Europa,²⁰ maar kon niet worden bevestigd in een cohort uit de VS.²¹ De onderzoekers die als eersten deze autoantistof beschreven,¹⁸ toonden recent aan dat 8 van de 11 patiënten met ANCA-negatieve necrotiserende glomerulonefritis wel autoantistoffen tegen hLAMP2 hadden. Deze antistoffen bonden specifiek aan humane glomeruli maar niet aan hLAMP2 afkomstig uit neutrofielen dat meer complex is geglycosyleerd.²² Samenvattend lijken infecties met bacteriën met fimbriae (zoals *Klebsiella pneumoniae* en *Escherichia coli*), in de juiste context, te kunnen leiden tot de ontwikkeling van pathogene autoantistoffen tegen LAMP2 welke aan de basis zouden kunnen staan van pauci-immuun necrotiserende glomerulonefritis.

Conclusie

Er zijn sterke aanwijzingen dat microbiële factoren een rol spelen bij de expressie van AAV. Chronisch dragerschap van *S. aureus* in de neus is een sterke risicofactor voor opvlamming van de ziekte, met name van GPA. Hoe dragerschap van *S. aureus* tot expressie van de ziekte leidt is (nog) niet geheel duidelijk, maar verschillende experimentele gegevens laten zien dat producten van *S. aureus* kunnen leiden tot immunosuppressie. Infecties met fimbriaedragende bacteriën zouden aanleiding kunnen geven tot het ontstaan van autoantistoffen tegen LAMP2, die, naast ANCA, een rol zouden kunnen spelen bij de inductie van pauci-immuun necrotiserende glomerulonefritis. Deze laatste observaties vereisen nog bevestiging in andere studies.

Referenties

- Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario F, et al. 2012 Revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. *Arthritis Rheum* 2013;65:1-11.
- Kallenberg CGM. Key advances in the clinical approach to ANCA-associated vasculitis. *Nat Rev Rheumatol* 2014;10:484-93.
- Kallenberg CGM, Stegeman CA, Abdulahad WH, Heeringa P. Pathogenesis of ANCA-associated vasculitis: new possibilities for intervention. *Am J Kidney Dis* 2013;62:1176-87.
- Van Timmeren MM, Heeringa P. Pathogenesis of ANCA-associated vasculitis: recent insights from animal models. *Curr Opin Rheumatol* 2012;24:8-14.
- Lepse N, Abdulahad WH, Kallenberg CGM, Heeringa P. Immune regulatory mechanisms in ANCA-associated vasculitides. *Autoimmun Rev* 2011;11:77-83.
- Stegeman CA, Cohen Tervaert JW, Sluiter WJ, Manson WL, de Jong PE, Kallenberg CGM. Association of chronic nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and higher relapse rates in Wegener granulomatosis. *Ann Intern Med* 1994;120:12-7.
- Stegeman CA, Cohen Tervaert JW, de Jong PE, Kallenberg CGM. Trimethoprim-sulfamethoxazole (co-trimoxazole) for the prevention of relapses of Wegener's granulomatosis. *N Engl J Med* 1996;335:16-20.
- Tuin J, Sanders JSF, Stegeman CA. Co-trimoxazole monotherapy as induction therapy for localized granulomatosis with polyangiitis. *Presse Med* 2013;42:771.
- Hui Y, Wohlers J, Podschun R, Hedderich J, Lamprecht P, Ambrosch P, et al. Antimicrobial peptides in nasal secretion and mucosa with respect to *S. aureus* colonization in Wegener's granulomatosis. *Clin Exp Rheumatol* 2011;29:549-556.
- Wohlers J, Breucker K, Podschun R, Hedderich J, Lamprecht P, Ambrosch P, et al. Aberrant cytokine pattern of the nasal mucosa in granulomatosis with polyangiitis. *Arthritis Res Ther* 2012;14:R203.
- Glasner C, van Timmeren MM, Stobernack T, Omansen TF, Raangs EC, Rossen JW, et al. Low anti-staphylococcal IgG responses in granulomatosis with polyangiitis patients despite long-term *Staphylococcus aureus* exposure. *Sci Rep* 2015;5:8188.
- Holvast A, Stegeman CA, Benne CA, Huckriede A, Wilschut JC, Palache AM, et al. Wegener's granulomatosis patients show an adequate antibody response to influenza vaccination. *Ann Rheum Dis* 2009;68:873-8.
- Popa ER, Stegeman CA, Bos NA, Kallenberg CGM, Cohen Tervaert JW. Staphylococcal superantigens and T cell expansions in Wegener's granulomatosis. *Clin Exp Immunol* 2003;132:496-504.
- Popa ER, Stegeman CA, Abdulahad WH, van der Meer B, Arends J, Manson WM, et al. Staphylococcal toxic-shock-syndrome-toxin-1 as a risk factor for disease relapse in Wegener's granulomatosis. *Rheumatology* 2007;46:1029-33.
- Spolsky R, Leonard WJ. Interleukin-21: a double-edged sword with therapeutic potential. *Nat Rev Drug Discov* 2014;13:379-95.
- Pendergraft WF 3rd, Preston GA, Shah RR, Tropsha A, Carter CW jr, Jennette JC, et al. Autoimmunity is triggered by cPR3 (105-201), a protein complementary to human autoantigen proteinase-3. *Nat Med* 2004;10:72-9.
- Tadema H, Kallenberg CGM, Stegeman CA, Heeringa P. Reactivity against complementary proteinase-3 is not increased in patients with PR3-ANCA-associated vasculitis. *PLoS One* 2011;6:e19792.
- Kain R, Matsui K, Exner M, Binder S, Schaffner G, Sommer EM, et al. A novel class of autoantigens of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in necrotizing and crescentic glomerulonephritis: the lysosomal glycoprotein h-LAMP-2 in neutrophil granulocytes and a related membrane protein in glomerular endothelial cells. *J Exp Med* 1995;181:585-97.
- Kain R, Exner M, Brandes R, Ziebermayer R, Cunningham D, Alderson CA, et al. Molecular mimicry in pauci-immune focal necrotizing glomerulonephritis. *Nat Med* 2008;14:1088-96.
- Kain R, Tadema H, McKinney EF, Benharkou A, Brandes R, Peschel A, et al. High prevalence of autoantibodies to hLAMP-2 in anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:556-66.
- Roth AJ, Brown MC, Smith RN, Badhwar AK, Parente O, Chung HC, et al. Anti-LAMP-2 antibodies are not prevalent in patients with antineutrophil cytoplasmic autoantibody glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:545-55.
- Peschel A, Basu N, Benharkou A, Brandes R, Brown M, Dieckmann R, et al. Autoantibodies to hLAMP-2 in ANCA-negative pauci-immune focal necrotizing GN. *J Am Soc Nephrol* 2014;25:455-63.
- Van Timmeren MM, Heeringa P, Kallenberg CGM. Infectious triggers for vasculitis. *Curr Opin Rheumatol* 2014;26:416-23.
- Kallenberg CGM, Stegeman CA, Heeringa P. Autoantibodies vex the vasculature. *Nat Med* 2008;14:1018-19.

Parasitaire worminfecties en auto-immuunziekten: over immuunhomeostase en immuuntherapie

A.J. Duits

Samenvatting

De immuunrespons tegen pathogenen is gebaseerd op een complex netwerk van cellen en humorale factoren van het aangeboren en verworven immuunsysteem. De specifieke verworven immuunrespons is op hoofdlijnen te verdelen in een type 1-immuunrespons (gericht tegen onder andere bacteriën en virussen) en een type 2-immuunrespons (gericht tegen onder andere wormen). Beide immuunresponsen zijn met elkaar in balans en worden elk gereguleerd. Een goede regulatie van de immuunrespons resulteert in een balans tussen tolerantie en ontsteking en garandeert effectiviteit met zo min mogelijk weefsel-schade. Het hieraan ten grondslag liggend concept van immuunhomeostase waarbij de resulterende immuunrespons grotendeels afhankelijk is van de verhouding in aantal en activiteit van specifieke T-celsubgroepen (T-regulatorcellen en T-helpercellen) wordt nader belicht. Immuunhomeostase wordt gedurende de ontwikkeling van de gastheer mede beïnvloed door blootstelling aan microflora en macrofauna.

Epidemiologische studies laten een toename van auto-immuunziekten zien in gebieden met een verlaagde incidentie van worminfecties. De verlaagde blootstelling aan wormen is een mogelijk gevolg van verbeterde sanitaire voorzieningen en sociaaleconomische ontwikkeling resulteert in een gemodificeerde immuunhomeostase. Een zwaardere type 1-immuunrespons brengt een verhoogde kans op auto-immuunziekten met zich mee. Uit de literatuur blijkt dat de bestaande immuunhomeostase ook beïnvloed kan worden door een krachtige type 2-immuunrespons.

Deze gegevens vormen de basis voor het concept om worminfecties of toediening van wormeieren als immuuntherapie te gebruiken voor auto-immuunziekten. De daadwerkelijke veiligheid en effectiviteit van deze vorm van immuuntherapie dienen door de nu lopende studies nog bewezen te worden.

Abstract

The immune response against pathogens is based on an intricate network of cells and humoral factors of

the innate and adaptive immune response. Immune responses can generally be categorized as type 1 (for example directed against bacteria and viruses) or type 2 (for example directed against helminths). An effective regulation during an immune response in the host of tolerance versus inflammation guarantees pathogen inactivation with minimal tissue damage. The underlying concept of immune homeostasis is further clarified with the resulting immune response largely dependent on the ratio in numbers and activity of specific T-cell subsets (T-regulator cells and T-helper cells). Immune homeostasis during host development is partly determined by exposure to microflora and macrofauna.

Epidemiological studies show an increment of autoimmune diseases in areas with decreased helminth infection incidence. The reduced exposure to helminths is possibly related to improved sanitary conditions and social economic development leading to host immune homeostasis with an increased risk for auto-immune disease development. Some reports also show that existing host immunehomeostasis can be influenced by a potent type 2 immune response.

These concepts and data underlie the potential use of helminth infections or administration of helminth ova as immune therapy for autoimmune diseases. The actual safety and efficacy of this type of treatment has still to be determined by ongoing studies.

Inleiding

Het immuunsysteem en de immuunrespons

Het immuunsysteem bij vertebraten omvat een uiterst complex (en succesvol) netwerk aan cellen en mediators die interacteren met andere systemen ter bescherming van het organisme tegen pathogenen. Voor een snelle en

A.J. Duits, St. Elisabeth Hospitaal en Stichting Rode Kruis bloedbank, Curaçao. Correspondentieadres: A.J. Duits, afdeling Klinisch laboratorium, St. Elisabeth Hospitaal, Bredestraat 193(0), Curaçao, tel: +59994618433, e-mail: ajduits@gmail.com.

effectieve respons maakt het immuunsysteem gebruik van een aangeboren en een verworven immuunrespons. Binnen de verworven immuunrespons ontstaat het immunologisch geheugen (immunitet) en spelen T-cellen een centrale rol. De aangeboren en de verworven immuunresponsen vertonen een grote mate van onderlinge interactie. Zo is het evident dat het aangeboren immuunsysteem een belangrijke actieve rol speelt in het initiëren van alle immuunresponsen.¹ Dit gebeurt met name door dendritische cellen die antigeenpeptiden selecteren en T-cellen activeren door geproduceerde cytokines.² Het verworven immuunsysteem versterkt op zijn beurt het aangeboren immuunsysteem door cytokines die door T-cellen zijn geproduceerd.

T-cellen kunnen functioneel onderverdeeld worden in T-helper- (Th-), T-cytotoxische (TC-) en regulatoire (Treg-) T-cellen. Th-cellen worden op dit moment afhankelijk van hun cytokineproductieprofiel ingedeeld in Th1-, Th2-, Th9-, Th17- en Th22-cellen.³

De immuunrespons tegen zich snel vermenigvuldigende pathogenen (zoals virussen en bacteriën) wordt type 1-immuunrespons genoemd, heeft voornamelijk een cellulair karakter en omvat een breed scala aan antimicrobiële effectoren die tevens een belangrijk effect uitoefenen op de activatie van fagocyten. De activiteit van deze fagocyten wordt gestuurd en versterkt door cytokines die door Th1- en Th17-cellen worden geproduceerd.

Type 2-immuunrespons omvat de respons tegen worminfecties en heeft naast een humoraal karakter ook een cellulaire kant. Van een steeds groter wordende groep immuuncellen die vooral actief zijn vanuit het aangeboren immuuntraject is bekend dat zij een rol spelen in de type 2-immuunrespons: eosinofielen, basofielen, mastcellen, M2-macrofagen en ILC's.¹ Th2-cellen fungeren binnen dit traject als de centrale regulator.^{4,5}

Th1-activiteit wordt gekenmerkt door de productie van pro-inflammatoire cytokines waaronder IL-2, TNF- α en IFN- γ , Th17-cellen voornamelijk door IL-17-productie terwijl Th2-cellen anti-inflammatoire cytokines waaronder IL-4, IL-5, IL-10 en IL-13 produceren.

Een immuunrespons kan ook voor de gastheer nadelige effecten met zich meebrengen. Zo kan hoog toxische antimicrobiële activiteit, indien niet effectief gereguleerd, uiteindelijk schadelijk zijn voor gastheerweefsel. Bij een immuunrespons zijn tijdige tolerantie-inductie en controle van inflammatie dus van wezenlijk belang.

Tregcellen spelen bij dit proces een prominente rol en worden over het algemeen gekarakteriseerd als

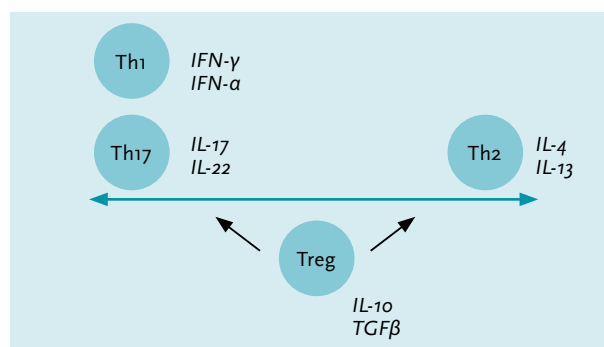
CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺cellen. Tregcellen produceren de immuunmodulerende cytokines IL-10 en TGF- β en hebben als functie immuunresponsen te reguleren en schade aan de gastheer te voorkomen (figuur 1). Het aantal en de activiteit van Tregcellen vormen een cruciale component van het immuunregulatiesysteem.⁶ De inductie van Th17- en Th1-gestuurde immuunresponsen is direct geassocieerd met de inductie van Tregcellen.⁷

Tijdens een immuunrespons kunnen pro-inflammatoire Th-cellen (Th1 en Th17) of anti-inflammatoire Th-cellen (Th2) bepalend zijn voor het karakter van de immuunrespons. Tregcellen reguleren dit proces ter voorkoming van gastheerschade. De belangrijkste cytokines die voor de activiteit van de betreffende T-cel zijn geproduceerd, zijn weergegeven.

Immuunhomeostase

Het krachtige immuunsysteem moet bij het bestrijden van pathogenen effectief zijn en zo min mogelijk schadelijke effecten voor de gastheer teweegbrengen. Dat betekent een juiste balans tussen tolerantie en inflammatie. De immuunhomeostase van de gastheer is evolutionair gezien voor een belangrijk deel beïnvloed door verschillende pathogenen die de gastheer infecteren. Zo wordt er bij vertebraten door frequente blootstelling aan parasieten en micro-organismen een optimale immuunhomeostase bevorderd door inductie van regulatoire mechanismen die potentieel schadelijke ontstekingsreacties in toom kunnen houden. Een van deze mechanismen behelst het induceren en activeren van een voldoende aantal Tregcellen bij een immuunrespons. Afwezigheid of vermindering van blootstelling aan pathogenen gedurende de ontwikkeling van de gastheer kan leiden tot een verschoven immuunhomeostase met nadelige effecten als gevolg. Zo kan een onvoldoende gereguleerd type 1-immuunrespons leiden tot auto-immuunziekten. Op vergelijkbare wijze kan een onvoldoende gereguleerde type 2-inflammatie leiden tot fibrose en allergie. Een milieu waarbij het organisme gedurende zijn ontwikkeling met chronische infecties in aanraking komt zou dus beschermend kunnen zijn voor het ontstaan van auto-immuunziekten en allergieën.⁴

Figuur 1. Th-cel/Treginteractie gedurende een immuunrespons.



i M2-macrofagen mediëren wondheling en onderdrukken inflammatie. ILC-2: de groep 2 aangeboren lymfoïde cellen ("innate lymphoid cell") zijn cellen die in staat zijn om type 2-immuunresponsen te bewerkstelligen en zijn afhankelijk voor hun activiteit van signalen afkomstig van epitheel- en stromale cellen.

De immuunrespons bij parasitaire worminfecties

Worminfecties zijn wereldwijd de meest voorkomende parasitaire infecties. Op dit moment is meer dan een kwart van de wereldpopulatie geïnfecteerd met wormen.⁸ Wormen nestelen zich afhankelijk van de soort op verschillende plekken in de gastheer en vertonen soms complexe levenscycli, met transport door de bloedbaan of lichaamsweefsels terwijl andere soorten alleen in het gastro-intestinaal stelsel verblijven.² Wormen induceren bij infectie een krachtige type 2-immuunrespons zowel bij muizen als mensen.⁹

Bij infectie van de gastheer door parasitaire wormen worden de weefsels door fysiek trauma aangetast wanneer de parasiet door het lichaam migreert. Er is geen snelle vermenigvuldiging van het micro-organisme (in tegenstelling tot infecties met bacteriën en virussen) waardoor een type 1-immuunrespons ineffectief of zelfs schadelijk zou zijn. Een type 2-immuunrespons is beter geschikt om reparatie van weefselbeschadiging, controle van ontsteking, homeostase en verwijdering van de worm te bewerkstelligen.^{3,4,9} Snel herstel van weefselbeschadiging is belangrijk ter voorkoming van infecties met bacteriën en andere pathogenen die uiteindelijk zelfs tot sepsis kunnen leiden.⁴ Weefselbeschadiging leidt tot de productie van verschillende van het epitheel afkomstige cytokines, alarmines genaamd, die een type 2-immuunrespons kunnen induceren. Zo is IL-33 een alarmine dat vrijkomt vanuit de kern van necrotische epitheelcellen, endotheelcellen en fibroblasten.^{4,9} IL-33 activeert op zijn beurt ILC-2-cellen die type 2-immuunresponsen mediëren. Ook een aan 'epidermal growth factor' gerelateerd cytokine amphireguline (Areg) lijkt een kritische alarmine te zijn. Areg is primair van belang bij het induceren van tolerantie en het bevorderen van herstel van weefselbeschadiging. Ook is Areg in staat Tregcelfunctie te vergroten.⁹

Het evolutionair 'succes' van worminfecties is te danken aan de actieve modulatie van het immuunsysteem van de gastheer met als doel overleving van de parasiet in de gastheer door een effectieve tolerantie-inductie.⁸ Opvallend is het feit dat de evolutie, ondanks de verschillende wormsoorten (*Nematoda*, *Cestoda* en *Trematoda*), bij een aantal soorten geleid heeft tot overeenkomstige mechanismen om de gastheerimmuunrespons te beïnvloeden.

Parasitaire wormen kunnen overleven vanwege het feit dat de initiële/oorspronkelijke gastheer-type 2-immuunrespons van de gastheer gedeeltelijk onderdrukt wordt door specifieke mechanismen die afkomstig zijn van de gast. Inhibitie van de oorspronkelijke type 2-immuunrespons door activatie van T-regulatorcellen door wormen (of wormproducten) vormt hiervan een wezenlijk onderdeel. Bij een worminfectie treedt niet alleen een toename van het aantal Tregcellen op bij de gastheer maar ook het profiel van deze Tregcellen verandert naar een krachtigere

suppressieve functie (gekaracteriseerd door onder andere een verhoogde CD103-expressie).¹⁰

Bij parasitaire worminfecties door verscheidene wormsoorten wordt naast Tregactivatie ook gebruikgemaakt van andere mechanismen ter onderdrukking van de type 2-gastheerimmuunrespons. Worminfecties beïnvloeden de maturatie van dendritische cellen, de activiteit van macrofagen en productie van specifieke regulatoire cytokines (IL-4, IL-10, TGF- β)² met als resultaat een verminderde T-celactivatie en een afgezwakte immuunrespons.¹¹ Bij vele wormsoorten zijn, naast eieren, ook andere door de worm geproduceerde biologisch actieve secretore antigenen immuunmodulerend bij de gastheer.³ Recent is aangetoond in een muismodel voor infectie met rondwormen dat ook exosomen (een mechanisch raamwerk voor actieve RNA-overdracht tussen de soorten) door wormen als mechanisme voor beïnvloeding van het immuunsysteem van de gastheer gebruikt worden.¹² Via deze exosomen worden de effecten op alarmines zoals IL-33 geblokkeerd door verlaging van de receptor voor dit cytokine. Dit gaat via zogeheten micro-interfering RNA dat aanwezig is in exosomen.¹²

De initiële inductie van een type 2-immuunrespons met aansluitend een actieve modulatie van het immuunsysteem als gevolg van een worminfectie, heeft ook effecten op de reactie van het gastheerimmuunsysteem op allergenen, autoantigenen of alloantigenen.

Het immuunrespons profiel bij auto-immuunziekten

Auto-immuunziekten worden gekarakteriseerd door een gestoorde immuunhomeostase met een verworven immuunreactie tegen lichaamseigen organen of systemen mogelijk als gevolg van genetische predispositie, omgevingsfactoren of fouten in het immuunsysteem. Het nettoresultaat is dat de immuunhomeostase doorbroken wordt en dat er geen onderscheid meer gemaakt kan worden met lichaamseigen structuren.¹³ De aan auto-immuunziekte gerelateerde pathologie kan veroorzaakt worden door zowel cellulaire als antilichaamgedieerde componenten. Verscheidene auto-immuunziekten worden gekenmerkt door een (cellulaire) overactiviteit van de type 1-immuunrespons. Ook bij auto-immuunziekten spelen T-cellen dus een primaire rol. De incidentie van auto-immuunziekten en allergieën is in de afgelopen decennia met name toegenomen in de westerse geïndustrialiseerde landen. Epidemiologische data suggereren een relatie tussen de afname in aantal worminfecties en een toename van de prevalentie van immuungedieerde ziekten zoals colitis ulcerosa, ziekte van Crohn, type 1-diabetes, multipele sclerose, reumatoïde artritis, astma en voedselallergie.^{2,13}

Deze toename van deze prevalentie zou het gevolg kunnen zijn van een levensstijl met betere sanitaire condities en sociaaleconomische groei waardoor er een verminderde

blootstelling is aan bacteriën en wormen gedurende de kinderleeftijd (de hygiënetheorieⁱⁱ).^{1,11} Als gevolg hiervan zou het immuunsysteem zich niet meer optimaal gebalanceerd kunnen ontwikkelen. De uiteindelijke verschoven immuunhomeostase resulteert in een verhoogde gevoeligheid voor het ontwikkelen van auto-immuunziekten en allergische condities.

Verscheidene studies hebben aangegeven dat wormen een grote druk tijdens de evolutie hebben uitgevoerd op de selectie van interleukinegenen bij mensen.^{11,14} Een genomische associatiestudie heeft significante, positieve correlaties aangetoond tussen parasitaire infectiedruk en 'single nucleotide polymorphisms' (SNP's) in interleukineallelen die tevens geassocieerd zijn met het ontwikkelen van inflammatoire darmziekten en coeliakie. Een voorbeeld hiervan is het allel rs11209026 van het gen coderend voor de receptor van IL23, IL23R,¹⁴ welke een beschermend effect lijkt te hebben op eerdergenoemde ontstekingsziekten van de darm.¹⁵ IL23 is een belangrijke stimulator van Th17-cellen, maar het is nog niet bekend hoe deze SNP het immuunsysteem moduleert.

Worminfecties als immunotherapie voor auto-immuunziekten

Het beoogde doel van immunotherapie met wormen bij auto-immuunziekte is het beïnvloeden van een overactief type 1-immuunprofiel door middel van een krachtige gemodificeerde type 2-immuunrespons. Verscheidene beschrijvende studies en trials suggereren dat een gecontroleerd type 2-immuunrespons een aanzienlijke rol kan spelen in het beïnvloeden van de vigerende immuunhomeostase bij de gastheer. Zo beschrijft een Argentijnse studie een groep van 12 patiënten met multipale sclerose die toevallig een gastro-intestinale worminfectie opliepen die allen voor 5 jaar in remissie bleven terwijl niet-geïnfecteerde patiënten verscheidene ziektecomplicaties vertoonden.¹¹ De verschillende in de literatuur vermelde dierexperimenten bij voornamelijk muismodellen (onder andere voor diabetes mellitus type 1, reumatische artritis en inflammatoire darmziekten) laten een significant positief effect zien op het ziektebeloop. Resultaten tot nu toe geven tevens aan dat infecties met levende wormen een krachtiger effect bewerkstelligen dan toegediende producten die afkomstig zijn van de worm.⁴ Naar aanleiding van deze bevindingen zijn verscheidene humane studies uitgevoerd met therapeutische

worminfecties (of toediening van wormeieren) als immunotherapie bij auto-immuunziekten.

Ondanks aanvankelijk enkele aansprekende publicaties van studies met veelal een klein aantal patiënten zijn de therapie-effecten die tot nu toe in de literatuur zijn beschreven niet eensluidend. *Trichuris suis*-infecties bij inflammatoire darmziekten en toediening van ova van *Trichuris suis* bij de ziekte van Crohn en colitis ulcerosa bleken veilig en goed te doorstaan bij patiënten.⁸ De behandeling liet bij een gedeelte van de patiënten een positief effect op de ziekteactiviteit zien. Ova van *Trichuris suis* zijn ook gebruikt in onderzoeken bij patiënten met multipale sclerose en toonde initieel significant lagere aantallen exacerbaties en geremde ziekteprogressie.³ Een andere recente kleine studie toonde echter, alhoewel veilig, geen effect van wormtherapie bij patiënten met multipale sclerose.¹⁶ Een cochrane review van onderzoek van wormtherapie bij patiënten met inflammatoire darmziekten had als conclusie dat er tot nu toe onvoldoende bewijs is voor de veiligheid en een positief effect van wormtherapie.¹⁷

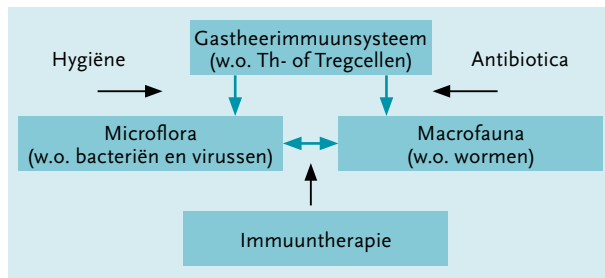
Complexiteit van het immuunhomeostaseconcept

Het gebruik van het concept immuunhomeostase als theoretische basis voor immunotherapie van auto-immuunziekten met therapeutische worminfecties (of toediening van wormproducten) vereist een continue kritische evaluatie. Het immuunsysteem omvat een complex netwerk aan systemen die elkaar beïnvloeden waardoor wij ons bewust moeten zijn van het feit dat onze meestal reductionistische aanpak van het onderwerp een vertekend beeld kan geven van de realiteit. In het gastro-intestinaal stelsel van de gastheer komen naast macro-organismen (parasitaire wormen) ook verschillende micro-organismen (bacteriën, virussen) voor met elk hun eigen effect op het immuunsysteem en de immuunhomeostase van de gastheer. De toenemende inzichten en complexiteit van de immuunprocessen maken een keuze voor deze specifieke therapievorm minder vanzelfsprekend en de te verwachten effecten minder voorspelbaar. Uit recente literatuur blijkt dat in het gastro-intestinaal systeem de microflora van groot belang is voor het beheersen van worminfecties. Gebruik van antibiotica resulteerde in een verminderde Th2-respons tegen *Trichuris muris* aangezien (gramnegatieve aerobische) bacteriën van belang zijn voor de lokale adhesie en de vermenigvuldiging van wormen.¹⁸

Twee recente studies toonden aan dat door worminfecties een latente virale herpesinfectie in macrofagen gereactiveerd kan worden. De auteurs concludeerden dat dit hoogstwaarschijnlijk het gevolg was van een verschuiving van de immuunrespons naar een profiel gekarakteriseerd door type 2 IL-4 als gevolg van de parasitaire infectie. Hierdoor verdween het type-1 IFN- γ gedomineerd profiel dat normaliter virale infecties bij de gastheer onderdrukt.¹⁹

ii Initieel werd de hygiënetheorie mechanistisch beschreven vanuit een Th1/Th2-verschuiving van de immuunrespons. Echter de prevalentie van allergieën bleek ook toe te nemen naast Th1-ziekten zoals diabetes mellitus type 1, multipale sclerose en inflammatoire darmziekten. Op dit moment wordt bij de hygiënetheorie mechanistisch uitgegaan van een verschuiving van de balans tussen Treg-enerzijds en Th1/Th2- en Th17-populaties anderzijds.¹¹

Figuur 2. Immuunhomeostase als integraal systeem



Het is evident dat er bij immuunhomeostase een delicate balans bestaat tussen de macrofauna, microflora en gastheerimmunititeit. Deze balans is in de afgelopen decennia niet alleen door verbeterde hygiëne (in ontwikkelde landen) beïnvloed, maar wordt heden ten dage continu gemodificeerd door antibioticagebruik, gebruik van probiotische en prebiotische middelen en immuuntherapieën.²⁰ Daarom is het van groot belang om deze drie systemen als één integraal systeem te beschouwen bij het overwegen van behandeling van auto-immuunziekten met therapeutische worminfecties (figuur 2).

Voor de immuunhomeostase van de gastheer is er een delicate balans tussen microflora, macrofauna en immuunsysteem die elkaar beïnvloeden. Beïnvloeding van dit systeem door hygiënemaatregelen, antibiotica of immuuntherapie heeft effect op alle drie systemen.

Tot slot

Verscheidene studies suggereren dat wormen een therapeutisch potentieel in de behandeling van auto-immuunziekten kunnen hebben.ⁱ Alhoewel dit idee in eerste instantie veelbelovend is, dient nog uitgebreid onderzoek gedaan te worden naar de toepasbaarheid van therapeutische worminfecties voor de behandeling van auto-immuunziekten.ⁱⁱⁱ Op dit moment zijn er een twintigtal geregistreerde studies gaande die gebruik maken van onder andere *Trichuris suis*- of *Necator americanus*-parasieten voor behandeling van verschillende auto-immuunziekten die hier mogelijk een definitief antwoord op kunnen geven.¹³

Referenties

1. Fleming JO, Weinstock JV. Clinical trials of helminth therapy in autoimmune diseases: rationale and findings. *Parasite Immunol* 2015; jan 20 [epub ahead of print].
2. Weinstock JV, Elliott DE. Helminth infections decrease host susceptibility to immune-mediated diseases. *J Immunol* 2014;193:3239-47.
3. Bashi T, Bizarro G, Shor DBA, Blank Y, Shoenfeld Y. The mechanisms behind helminth's immunomodulation in autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2015;14:98-104.

iii Ook Zorginstituut Nederland heeft in een recent uitgebracht standpunt aangegeven dat behandeling van patiënten met inflammatoire darmziekten met wormtherapie (nog) niet voldoet aan het criterium van de stand van de wetenschap en praktijk.²¹

4. Gause WC, Wynn TA, Allen JE. Type 2 immunity and wound healing: evolutionary refinement of adaptive immunity by helminthes. *Nat Rev Immunol* 2013;13:607-14.
5. Kabat AM, Srinivasan N, Maloy KJ. Modulation of immune development and function by intestinal microbiota. *Trends Immunol* 2014;35:507-17.
6. Liston A, Gray DHS. Homeostatic control of regulatory t cell diversity. *Nat Rev Immunol* 2014;14:154-65.
7. Hayes KS, Bancroft AJ, Goldrick M, Portsmouth C, Roberts IS, Grecnis RK. Exploitation of the intestinal microflora by the parasitic nematode *trichuris muris*. *Science* 2010;328:1391-4.
8. Johnston CJC, McSorley HJ, Anderton SM, Wigmore SJ, Maizels RM. Helminths and immunological tolerance. *Transplantation* 2014;97:127-32.
9. Zaiss DMW, Gause WC, Osborne LC, Artis D. Emerging functions of amphiregulin in orchestrating immunity, inflammation, and tissue repair. *Immunity* 2015;42:216-26.
10. Taylor MD, van der Werf N, Maizels RM. T cells in helminth infection: the Regulators and the regulated. *Trends Immunol* 2012;33:181-9.
11. Maizels R, McSorley HJ, Smyth DJ. Helminths in the hygiene hypothesis: sooner or later? *Clin exp immunol* 2014;177:38-46.
12. Buck AM, Coakley G, Simbari F, McSorley HJ, Quintana JF, Le Bihan TH. Exosomes secreted by nematode parasites transfer small rnas to mammalian cells and modulate innate immunity. *Nat Commun* 2014;5:5488.
13. Wamms LJ, Mpairwe H, Elliott AM, Yazdanbakhsh M. Helminth therapy or elimination: epidemiological, immunological, and clinical considerations. *Lancet Infect Dis* 2014;14:1150-62.
14. Fumagalli M, Pozzoli U, Cagliani R, Comi GP, Riva S, Clerici M, et al. Parasites represent a major selective force for interleukin genes and shape the genetic predisposition to autoimmune conditions. *J Exp Med* 2009;206:1395-408.
15. Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, et al. A genome-wide association study identifies IL23r as an inflammatory bowel disease gene. *Science* 2006;314(5804):1461-3.
16. Voldsgaard A, Bager P, Garde E, Akeson P, Leffers AM, Madsen CG, et al. *Trichuris suis* ova therapy in relapsing multiple sclerosis is safe but without signals of beneficial effect. *Mult Scler* 2015;feb 19 [epub ahead of print].
17. Garg SK, Croft AM, Bager P. Helminth therapy (worms) for induction of remission in inflammatory bowel disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;1:CD009400. Doi: 10.1002/14651858.cd009400.pub2.
18. Hoerauf A. Microflora, helminths, and the immune system. Who controls whom? *N Engl J Med* 2010;363:1476-8.
19. Maizels RM, Gause WC. How helminths go viral. *Science* 2014;345:517-8.
20. Bancroft AJ, Hayes KS, Grecnis RK. Life on the edge: the balance between macrofauna, microflora and host immunity. *Trends Parasitol* 2012;28:93-8.
21. Zorginstituut Nederland. Standpunt wormtherapie bij inflammatoire darmziekten. 23 juli 2014.

De rol van het immuunsysteem in het ontstaan en het beloop van de ziekte van Lyme

J. Ursinus, S.W. Tas, M.C. Brouwer, L. Spanjaard, M.V. Starink, J.W.R. Hovius

Samenvatting

De incidentie van de ziekte van Lyme, of lymeborreliose, is in de afgelopen 20 jaar toegenomen in Nederland. Spirocheten uit de groep *Borrelia burgdorferi sensu lato* veroorzaken de ziekte en worden overgedragen tijdens een tekenbeet. Interacties tussen *Borrelia*-oppervlakte-eiwitten en speekselkliereiwitten van de teek zorgen ervoor dat *Borrelia* de initiële afweerrespons van de gastheer kan overleven. *Borrelia* kan dan via de huid dissemineren naar andere organen en weefsels en verschillende ziektemanifestaties veroorzaken. De symptomen bij de ziekte van Lyme worden echter niet veroorzaakt door het toxische effect van de spirocheet, maar door de afweerrespons van de geïnfecteerde gastheer. Het merendeel van de patiënten met de ziekte van Lyme heeft (vooral in de vroege fase) een zeer goede prognose na antibiotische behandeling. Desondanks houdt tot 33 procent van de patiënten specifieke, invaliderende klachten na aanbevolen antibiotische behandeling. Er zijn verscheidene hypothesen over het aanhouden van deze klachten. Zo is voor chronische artritis na antibiotische behandeling aangetoond dat dit kan berusten op een auto-immunreactie, al dan niet op basis van moleculaire mimicry tussen antigenen van de spirocheet en lichaamseigen eiwitten.

Abstract

The incidence of Lyme disease, or Lyme borreliosis, has increased over the past 20 years in the Netherlands. Spirochetes of the *Borrelia burgdorferi sensu lato* group, the causative agent of Lyme borreliosis, are transmitted by a tick bite. Due to interactions between *Borrelia* surface proteins and tick salivary gland proteins, *Borrelia* spirochetes can survive the initial host immune response. Then, they disseminate through the skin to other organs and tissues, causing a variety of clinical manifestations. It is however the host immune response that causes the symptoms of a *Borrelia* infection and not the toxic effect of the spirochetes itself. Most patients with Lyme borreliosis have a good prognosis after antibiotic treatment, especially when treated in the early phase of the infection. Nevertheless, up to 33 per cent of patients report non-specific, debilitating complaints after recommended antibiotic

treatment. There is a broad range of hypotheses that explain the persistence of these symptoms. For example, there is evidence that chronic Lyme arthritis after antibiotic treatment can be mediated by an autoimmune mechanism, possibly involving 'molecular mimicry' between spirochete antigens and self-proteins.

Introductie

De ziekte van Lyme is endemisch in veel landen in Europa en in bepaalde gebieden in de Verenigde Staten en Azië. In Nederland is de geschatte jaarlijkse incidentie 133 per 100.000 inwoners.¹ De ziekte wordt veroorzaakt door spirocheten uit de groep *Borrelia burgdorferi sensu lato*, welke worden overgedragen door *Ixodes*-teken. De *B. burgdorferi s.l.*-genospecies die met name in Europa en Azië voorkomen, zijn *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii* en in mindere mate *Borrelia burgdorferi sensu stricto*. Deze genospecies worden hoofdzakelijk verspreid via *Ixodes ricinus* en *Ixodes persulcatus*, in respectievelijk Europa en Azië. In de Verenigde Staten komt alleen *B. burgdorferi sensu stricto* voor, welke wordt overgedragen door *Ixodes scapularis*. *B. afzelii* is vooral geassocieerd met huidmanifestaties, *B. garinii* met name met neuroborreliose en *B. burgdorferi s.s.* veroorzaakt vooral artritis. Er is echter sprake van overlap en er zijn nog andere *B. burgdorferi s.l.*-genospecies die de ziekte van Lyme kunnen veroorzaken, waardoor dit onderscheid voor de kliniek van ondergeschikt belang is.² De diagnose lymeborreliose wordt gesteld op basis van de klinische symptomen en het uitsluiten van andere oorzaken, al dan niet in combinatie met serologisch onderzoek. De CBO-richtlijn adviseert serologisch onderzoek door middel van 'two-tier testing' om de specificiteit te vergroten. Hierbij wordt allereerst een screeningstest verricht en bij een positief resultaat

J. Ursinus, S.W. Tas, M.C. Brouwer, L. Spanjaard, M.V. Starink, J.W.R. Hovius, Academisch Medisch Centrum (AMC), Amsterdam. Correspondentieadres: J. Ursinus, Amsterdams Multidisciplinair Lyme borreliose Centrum, Academisch Medisch Centrum (AMC), tel.: 020-5669111 sein 57170, e-mail: lyme@amc.uva.nl en www.amc.nl/AMLC.

volgt een confirmatietest (immunoblot).³ Afhankelijk van de manifestatie kunnen een punctie of biopsie voor moleculaire diagnostiek (PCR), kweek en/of histopathologisch onderzoek ook een diagnostische bijdrage leveren.

Interacties tussen de teek, gastheer en pathogeen

De pathogenese van Lymeborreliose is afhankelijk van een grote verscheidenheid aan interacties tussen de *Borrelia*-spirocheet, de teek als vector en de mens als gastheer. In het navolgende zullen wij enkele belangrijke interacties en mechanismen bespreken.

Borrelia-spirochetten hebben verschillende mechanismen ontwikkeld om in de levenscyclus van de teek te kunnen overleven en om de immuunrespons van de mens te omzeilen.⁴ Eiwitten in de speekselklieren van de teek en *Borrelia*-oppervlakte-eiwitten spelen daarin een belangrijke rol. Om te kunnen overleven als larve, nimf en vervolgens als volwassen teek heeft de teek in elk stadium een bloedmaaltijd nodig. Over het algemeen raken tekenlarven geïnfecteerd met *Borrelia* na de eerste bloedmaaltijd op knaagdieren, bijvoorbeeld geïnfecteerde muizen. De spirochetten die zich vervolgens in de darmen van de teek bevinden, brengen verschillende oppervlakte-eiwitten ('outer surface proteins', Osp) tot expressie, onder andere OspA. Binding van OspA aan OspA-receptoren van de teek (TROSPA) zorgt ervoor dat spirochetten zich hechten aan de darmwand van de teek in de periode tussen de bloedmaaltijden.⁵ Als een mens gebeten wordt door een met *Borrelia* geïnfecteerde teek (veelal een nimf), dan zorgt de spirocheet voor minder expressie van het OspA terwijl over de gehele buitenmembraan OspC tot expressie wordt gebracht. De spirochetten migreren vervolgens naar de speekselklieren van de teek en kunnen zo worden overgebracht op de mens.^{6,7} Dit proces heeft tijd nodig en verklaart onder andere waarom de kans op infectie met *Borrelia* lager is als de teek snel wordt verwijderd.

In de speekselklieren van de teek bindt OspC aan het tekenspeekselkliereiwit Salp15. Dit is een speekselkliereiwit met een moleculair gewicht van 15-kDa dat de teek tot expressie brengt gedurende het voeden. Dientengevolge worden de spirochetten in een 'jasje' van Salp15 in de huid geïntroduceerd. Een met *Borrelia* geïnfecteerde teek maakt meer Salp15 dan een niet-geïnfecteerde teek, wat er op zou kunnen duiden dat dit een voordeel oplevert voor *Borrelia*. Inderdaad, door middel van in-vitro- en in-vivodierexperimenten is aangetoond dat binding van Salp15 aan OspC voorkomt dat *B. burgdorferi* wordt gedood door antistoffen die bij een eerdere infectie met *Borrelia* zijn aangemaakt. Daarnaast voorkomt de Salp15-OspC-binding ook direct doding door het complementsysteem zelf.⁸⁻¹⁰

Salp15 is een tekenspeeksel-eiwit gebleken met uiteenlopende functies. Zo is aangetoond dat Salp15 tevens de activatie van immature dendritische cellen remt door binding aan de C-type-lectinereceptor DC-SIGN op

het oppervlak van dendritische cellen. Deze binding leidt tot veranderde signaleringspaden en verminderde productie van pro-inflammatoire cytokines. Daarnaast is gebleken dat Salp15 bindt aan CD4 waardoor T-celreceptor-signalerings wordt geblokkeerd en er verminderde CD4+-T-celactivatie en -proliferatie plaatsvinden.^{11,12} Deze functies van Salp15 zijn niet alleen gunstig voor de teek zelf; door gebruik te maken van eerdergenoemde mechanismen kan *Borrelia* beter overleven in de huid van de mens. Dit biedt *Borrelia* bescherming tegen de afweerreactie van de gastheer. Echter, het biedt ook mogelijkheden tot ingrijpen; vervolgonderzoek heeft namelijk laten zien dat muizen die gevaccineerd waren met Salp15 en vervolgens intradermaal geïnfecteerd werden met Salp15-gecoate *B. burgdorferi*, of blootgesteld werden aan *B. burgdorferi*-geïnfecteerde teken, gedeeltelijk beschermd waren tegen een infectie.¹³

In de huid van de gastheer brengt *Borrelia* een aantal lipoproteïnen tot expressie op zijn buitenmembraan die herkend worden door immuuncellen en leiden tot de productie van inflammatoire mediators. Macrofagen en dendritische cellen veroorzaken een pro-inflammatoire respons als onderdeel van het aangeboren immuunsysteem.^{14,15} Toll-like receptor 2 (TLR2) op het oppervlak van monocyt en macrofagen is één van de 'pattern recognition receptors' (PRR's) die hieraan een belangrijke bijdrage leveren. Recentelijk werd aangetoond dat de minder bekende PRR TLR10 ook een rol speelt in de herkenning van *Borrelia*, met als nevengevolg onderdrukking van de TLR2-gemedieerde immuunrespons.¹⁶ Macrofagen en dendritische cellen fagocyteren vervolgens de spirochetten en migreren naar perifere lymfeklieren waar antigenen worden gepresenteerd aan T-cellen die geactiveerd raken. Naast deze gespecialiseerde immuuncellen spelen ook huidcellen, zoals keratinocyten en fibroblasten een rol in de afweer tegen *Borrelia*.¹⁷

Als *Borrelia* de initiële afweerrespons overleeft, kan deze per continuïtat, of via de lymfe- en bloedbaan dissemineren naar andere weefsels en organen in het lichaam. Met name in deze latere fase raken B-cellen geactiveerd en worden antistoffen geproduceerd. *Borrelia* probeert deze humorale respons echter te omzeilen en antistof-gemedieerde doding te voorkomen door recombinatie van het oppervlakte-eiwit VlsE. Er zijn echter ook geconserveerde stukken van VlsE, waaronder de 'invariable region' (IR)-6 waarop de C6 EIA/ELISA, een frequent gebruikte screeningstest voor de ziekte van Lyme, is gebaseerd. In een studie met patiënten met gedissemineerde Lymeborreliose is gebleken dat patiënten met een specifiek TLR2-polymorfisme *B. burgdorferi* minder goed herkennen en juist daardoor beschermd lijken te zijn tegen verschijnselen van gedissemineerde Lymeborreliose. Een verklaring voor dit fenomeen kan zijn dat klinische symptomen van late manifestaties onder andere worden

veroorzaakt door de inflammatoire respons gemedieerd door het aangeboren immuunsysteem.¹⁸

De rol van het immuunsysteem in het ontstaan van klachten

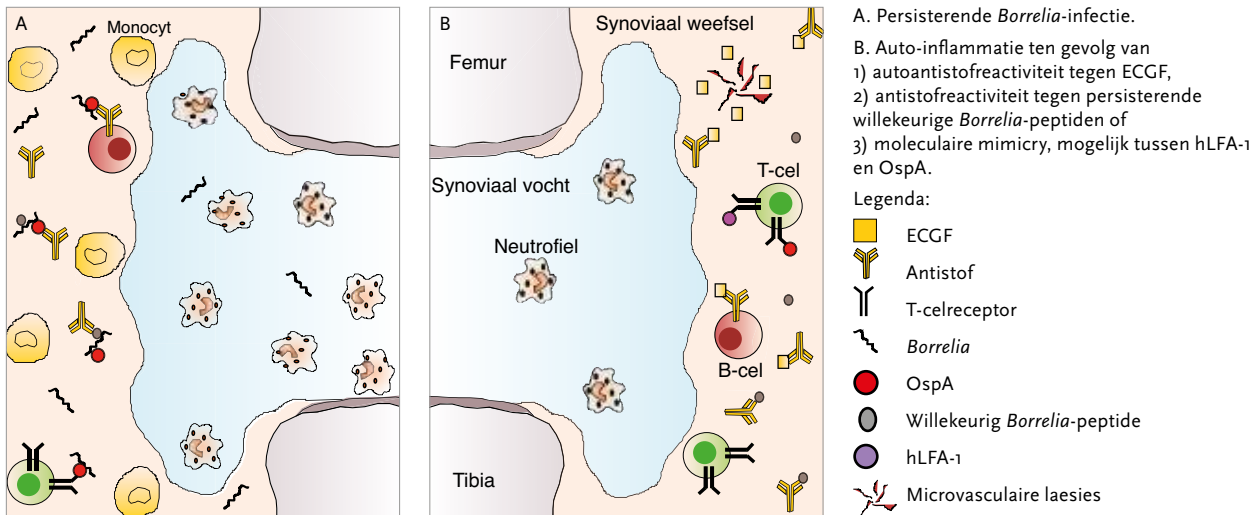
Voor zover bekend worden symptomen bij Lymeborreliose niet veroorzaakt door het toxische effect van de bacterie, maar door de immuunrespons van de gastheer als reactie op de infectie. In het genoom van *Borrelia*-bacteriën zijn geen genen geïdentificeerd die coderen voor toxines.¹⁹ De initiële of vroege manifestatie van de ziekte van Lyme is de erythema migrans (EM), een karakteristieke rode, centrifugaal uitbreidende huidafwijking. EM is veruit de meest voorkomende en veelal eerste uiting van Lymeborreliose. Bij initiële infectie via de huid speelt met name het aangeboren afweersysteem ('innate immune response') een rol en worden (sub)typen dendritische cellen en macrofagen gerekruteerd. De karakteristieke huidafwijking ontstaat onder andere door de rekrutering van T-cellen, neutrofielen en de productie van pro-inflammatoire cytokines ter plaatse van de tekenbeet.²⁰ Een vroege onbehandelde infectie kan dissemineren in weken tot maanden. Twee relatief vroege manifestaties zijn het *Borrelia*-lymfocytoom, een nodulair huidinfiltraat dat meestal gelokaliseerd is op de helix van het oor of de tepelhof, en multipole erythema migrans. Andere vroeg gedissemineerde ziektebeelden zijn Lyme-artritis en Lyme(myo)carditis. Lyme-artritis presenteert zich klassiek als een oligoartritis van de grote gewrichten, meestal de knie. De artritis is het gevolg van influx van grote hoeveelheden neutrofielen in het synoviale vocht en mononucleaire cellen in het synoviale weefsel als reactie op de spirocheten.²¹ Lyme(myo)carditis ontstaat door infiltratie van vooral monocytten en macrofagen in het myocard en kan verschillende gradaties van een atrioventriculair blok tot gevolg hebben. Tot slot kunnen *Borrelia*-spirocheten door de bloed-hersenbarrière passeren of door lokale invasie van perifere zenuwen een infectie van het zenuwstelsel veroorzaken. Vroege Lyme-neuroborreliose presenteert zich vooral als een pijnlijke (poly)radiculitis en/of meningitis, al dan niet met een perifere nervus-facialisparesis. In het centrale zenuwstelsel wordt de spirocheet herkend door monocytten, macrofagen of dendritische cellen. Deze cellen produceren vervolgens grote hoeveelheden pro-inflammatoire cytokines in de liquor.²² Daarbij komen ook chemokines (chemotactische cytokines) vrij, waaronder CXCL13 dat B-cellen aantrekt. CXCL13 wordt geproduceerd door monocytten als reactie op de binding tussen *Borrelia*-oppervlakte-eiwitten en TLR2.²³ Studies hebben aangetoond dat CXCL13 verhoogd is in de liquor van patiënten met vroege Lyme-neuroborreliose. Alhoewel dit chemokine nog onvoldoende betrouwbaar is als diagnostische marker, kan een hogere waarde bijdragen aan het stellen van de diagnose en in de follow-up van

patiënten na behandeling.²⁴ Dit vereist echter nog meer onderzoek. Late Lyme-manifestaties ontstaan in maanden tot jaren na de initiële infectie. Een chronische *Borrelia*-infectie, zoals het geval is bij acrodermatitis chronica atroficans (ACA, een blauw-rode verkleuring van de ledematen met initieel oedeemvorming en later atrofie en vaak gevoelsstoornissen van de huid), een chronische Lyme-artritis en een late Lyme-neuroborreliose, onderhoudt een aanhoudende immuunrespons en leidt daardoor tot klachten.

Persisteren van symptomen na behandeling

Bij het merendeel van de patiënten met Lymeborreliose verdwijnen de klachten na aanbevolen antibiotische behandeling (meestal doxycycline of ceftriaxon) zoals beschreven in de CBO-richtlijn.³ Afhankelijk van de manifestatie en ziekteduur voorafgaand aan de behandeling hebben patiënten met Lymeborreliose over het algemeen dan ook een goede prognose. Echter, uit meerdere klinische studies blijkt dat tot 33 procent van de patiënten na behandeling specifieke, langdurige en soms invaliderende klachten houdt. Dit percentage wisselt geografisch (Amerikaanse of Europese patiënten), per Lyme-manifestatie, afhankelijk van de tijd tussen infectie en antibiotische behandeling en hoe lang de patiënten zijn gevolgd. Het gaat hierbij met name om spieren gewrichtspijn, vermoeidheid en hoofdpijn. Wanneer objectieve klachten in het kader van Lymeborreliose verdwijnen of verminderen na aanbevolen antibiotische behandelingen en vervolgens subjectieve klachten ontstaan die langer dan zes maanden na het stellen van de diagnose aanwezig blijven, voldoet een patiënt aan de criteria voor het zogeheten 'post-treatment Lyme disease syndrome', ofwel postlymeziektesyndroom. Uiteraard moeten andere onderliggende ziekten, en op indicatie ook een persistente *Borrelia* of andere door teken overdraagbare infectie, uitgesloten zijn voordat deze diagnose kan worden gesteld. Er zijn verschillende hypothesen over de oorzaak van persistente klachten na behandelde ziekte van Lyme, maar een eenduidige conclusie en aanpak is er niet. Mogelijk spelen auto-inflammatoire reacties en irreversibele weefselschade een rol.²⁵⁻²⁷ In april 2015 is de LymeProspect-studie in Nederland van start gegaan waarin potentiële microbiologische, immunologische, klinische, epidemiologische en genetische factoren voor het persisteren van klachten na behandeling worden onderzocht. Dit is een prospectieve, observationele cohortstudie waarin patiënten van 18 jaar en ouder met (bij voorkeur nog onbehandelde) bevestigde erythema migrans of laat gedissemineerde Lyme-manifestaties geïnccludeerd kunnen worden (www.tekenradar.nl en www.amc.nl/AMLC). De follow-up is één jaar en door middel van onlinevragenlijsten en bloedanalyses wordt onderzocht hoe vaak deze klachten voorkomen en wat de

Figuur 1. Persisterende artritis na (in)adequate antibiotische behandeling van lymeartritis.



oorzaken c.q. predictoren zijn. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat – voor patiënten met niet-kenmerkende klachten na eerder behandelde Lymeziekte – additionele antibiotische behandeling geen substantieel of blijvend effect heeft vergeleken met een placebo.²⁸⁻³¹ Dit is recent voor de Europese situatie onderzocht in de PLEASE-studie, uitgevoerd in het Radboud Universitair Medisch Centrum, welke wacht op publicatie.³² Dit pleit tegen een persisterende *Borrelia*-infectie als verklaring voor de klachten. Restschade is een alternatieve verklaring voor aanhoudende klachten. Restverschijnselen kunnen maanden of zelfs jaren aanhouden en kunnen in golfbewegingen toe- en afnemen, maar nemen doorgaans met de tijd af. Restschade wordt met enige regelmaat na lymeneuroborreliose gezien.³³ Een andere mogelijke verklaring is een postinfectieus syndroom. Net als bij andere infectieziekten kan een infectie met *Borrelia* een uitlokkende factor zijn voor het ontstaan van aspecifieke klachten. De mechanismen achter een dergelijk syndroom zijn onbekend. Cognitief-gedragmatige en epidemiologische factoren kunnen daarnaast ook van invloed zijn op het persisteren van symptomen.

Tot slot is het bekend dat een *Borrelia*-infectie een auto-inflammatoire reactie kan uitlokken. Dit is met name aangetoond voor lymeartritis.³⁴ Lymeartritis ontstaat door disseminatie van *Borrelia*-spirochetes naar gewrichten waarna een immuunrespons ontstaat. Circa 10 procent van de patiënten met lymeartritis in de Verenigde Staten die één tot twee maanden met orale en één maand met intraveneuze antibiotica worden behandeld, ontwikkelt persisterende synovitis welke maanden tot jaren kan aanhouden.^{35,36} Chronische artritis na antibiotische behandeling kan berusten op een persisterende *Borrelia*-infectie of op een auto-immunreactie, al dan niet op basis van moleculaire mimicry (moleculaire gelijkheid tussen antigenen van de spirocheet en lichaamseigen

eiwitten); zie *figuur 1*.³⁷ In het synoviale vocht van patiënten die antibiotisch behandeld zijn, worden namelijk slechts zelden nog spirochetes of *Borrelia*-DNA aangetoond.³⁸ Zo is er bijvoorbeeld een gedeeltelijke overeenkomst gevonden tussen het humane antigeenpeptide hLFA-1 ('human leukocyte function-associated antigen 1') en een epitoom van het *Borrelia*-oppervlakte-eiwit OspA.³⁹ Er werd echter geen auto-antistofrespons waargenomen tegen deze humane peptiden. Dit suggereert dan ook dat er naast moleculaire mimicry andere mechanismen zijn die een auto-inflammatoire reactie kunnen veroorzaken. Daarnaast is gebleken dat patiënten met lymeartritis die niet goed reageren op antibiotica significant hogere waarden van verschillende pro-inflammatoire cytokinen in het synoviale vocht hebben dan patiënten met een goede respons op antibiotica.⁴⁰ Deze feiten samen pleiten dan ook voor een postinfectieuze auto-immuunogenese van persisterende artritis. Recent is endothelial cell growth factor (ECGF) geïdentificeerd als eerste autoantigeen voor T- en B-cellen bij circa 20 procent van de patiënten met antibiotica-refractaire lymeartritis.⁴¹ Bij deze patiënten is er tevens een significant hogere expressie van ECGF in het synovium, en obliteratieve microvasculaire laesies in het synoviale weefsel van deze patiënten. Dit suggereert dat anti-ECGF-antistoffen een pathogene rol spelen bij antibiotica-refractaire lymeartritis en dat deze antistoffen mogelijk een marker zijn van een nadelige persisterende immuunrespons.³⁴ Dergelijke patiënten kunnen in eerste instantie behandeld worden met intra-articulare corticosteroidinjectionen. Indien dit onvoldoende effect heeft, zijn 'disease-modifying anti-rheumatic drugs' (DMARD's) zoals hydroxychloroquine en methotrexaat aanvullende behandelopties. Als medicamenteuze behandeling onvoldoende

effectief is, kan (artrosopische) synovectomie overwogen worden.⁴²

Conclusie

De ziekte van Lyme is endemisch in Nederland en wordt veroorzaakt door spirocheten uit de groep *Borrelia burgdorferi sensu lato*, welke worden overgedragen door teken. Lymeborreliose kan zich op verschillende manieren manifesteren. De symptomen worden niet veroorzaakt door bacteriële toxinen, maar door de afweerrespons van de geïnfecteerde gastheer. Ondanks deze afweerreactie is *Borrelia* in staat om te overleven in ons lichaam en te dissemineren. Interactie van *Borrelia* met speekselklierewitten van de teek, als ook differentiële expressie van *Borrelia*-oppervlakte-eiwitten, spelen hierin een belangrijke rol. Antibiotica zijn effectief bij alle manifestaties van de ziekte van Lyme en in het algemeen hebben patiënten (vooral in de vroege fase) een zeer goede prognose na behandeling. Desondanks houdt tot 33 procent van de patiënten specifieke, invaliderende klachten na aanbevolen antibiotische behandeling. Er zijn verschillende hypothesen voor het aanhouden van deze klachten. Bij het merendeel van de patiënten zijn er geen aanwijzingen voor een persisterende *Borrelia*-infectie en additionele antibiotische behandeling blijkt geen blijvend voordeel te geven. Restschade of een auto-immuunreactie lijkt een belangrijke rol te spelen. Dit laatste is met name aangetoond bij patiënten met antibiotica-refractaire lymeartritis. Toenemend inzicht in de pathogenese van de ziekte van Lyme en in persistente klachten na behandeling zal in de toekomst leiden tot betere en gerichtere behandelstrategieën. Wij hopen dat de LymeProspect-studie hieraan zal bijdragen, maar aanvullend fundamenteel en klinisch wetenschappelijk onderzoek is onontbeerlijk.

Referenties

1. Hofhuis A, Harms MG, van der Giessen JWB, Sprong H, Notermans DW, van Pelt W. Ziekte van Lyme in Nederland 1994-2009: Aantal huisartsconsulten blijft toenemen. Is voorlichting en curatief beleid genoeg? Infectieziekten Bulletin 2010;21:84-7.
2. Strle F, Stanek G. Clinical manifestations and diagnosis of Lyme borreliosis. Curr Probl Dermatol 2009;37:51-110.
3. CBO. Richtlijn Lymeziekte, 2013: <http://www.diliguide.nl/document/1314>.
4. Hovius JW, van Dam AP, Fikrig E. Tick-host-pathogen interactions in Lyme borreliosis. Trends Parasitol 2007;23:434-8.
5. Pal U, Li X, Wang T, et al. TROSPA, an Ixodes scapularis receptor for *Borrelia burgdorferi*. Cell 2004;119:457-68.
6. Yang XF, Pal U, Alani SM, Fikrig E, Norgard MV. Essential role for OspA/B in the life cycle of the Lyme disease spirochete. J Exp Med 2004;199:641-8.
7. Schwan TG, Piesman J, Golde WT, Dolan MC, Rosa PA. Induction of an outer surface protein on *Borrelia burgdorferi* during tick feeding. Proc Natl Acad Sci U S A. 1995;92:2909-13.
8. Ramamoorthi N, Narasimhan S, Pal U, et al. The Lyme disease agent exploits a tick protein to infect the mammalian host. Nature 2005;436(7050):573-577.

9. Schuijt TJ, Hovius JW, van Burgel ND, Ramamoorthi N, Fikrig E, van Dam AP. The tick salivary protein Salp15 inhibits the killing of serum-sensitive *Borrelia burgdorferi sensu lato* isolates. Infect Immun 2008;76:2888-94.
10. Hovius JW, Schuijt TJ, de Groot KA, Roelofs JJ, Oei GA, Marquart JA, et al. Preferential protection of *Borrelia burgdorferi sensu stricto* by a Salp15 homologue in *Ixodes ricinus* saliva. J Infect Dis 2008;198:1189-97.
11. Hovius JW, de Jong MA, den Dunnen J, Litjens M, Fikrig E, van der Poll T, et al. Salp15 binding to DC-SIGN inhibits cytokine expression by impairing both nucleosome remodeling and mRNA stabilization. PLoS Pathog 2008;4:e31.
12. Anguita J, Ramamoorthi N, Hovius JW, Das S, Thomas V, Persinski R, et al. Salp15, an Ixodes scapularis salivary protein, inhibits CD4(+) T cell activation. Immunity 2002;16:849-59.
13. Dai J, Wang P, Adusumilli S, et al. Antibodies against a tick protein, Salp15, protect mice from the Lyme disease agent. Cell Host Microbe. 2009;6(5):482-492.
14. Glickstein L, Moore B, Bledsoe T, Damle N, Sikand V, Steere AC. Inflammatory cytokine production predominates in early Lyme disease in patients with erythema migrans. Infect Immun 2003;71:6051-3.
15. Salazar JC, Pope CD, Sellati TJ, Feder HM Jr, Kiely TG, Dardick KR, et al. Coevolution of markers of innate and adaptive immunity in skin and peripheral blood of patients with erythema migrans. J Immunol 2003;171:2660-70.
16. Oosting M, Cheng SC, Bolscher JM, Vestering-Stenger R, Plantinga TS, Verschuere IC, et al. Human TLR10 is an anti-inflammatory pattern-recognition receptor. Proc Nat Acad Sci U S A 2014;111:E4478-84.
17. Marchal CM, Luft BJ, Yang X, Sibilia J, Jaulhac B, Boulanger NM. Defensin is suppressed by tick salivary gland extract during the in vitro interaction of resident skin cells with *Borrelia burgdorferi*. J Invest Dermatol 2009;129:2515-7.
18. Schroder NW, Diterich I, Zinke A, et al. Heterozygous Arg753Gln polymorphism of human TLR-2 impairs immune activation by *Borrelia burgdorferi* and protects from late stage Lyme disease. J Immunol 2005;175:2534-40.
19. Fraser CM, Casjens S, Huang WM, et al. Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete, *Borrelia burgdorferi*. Nature 1997;390(6660):580-6.
20. Mason LM, Veerman CC, Geijtenbeek TB, Hovius JW. Menage a trois: *Borrelia*, dendritic cells, and tick saliva interactions. Trends Parasitol 2014;30:95-103.
21. Steere AC, Glickstein L. Elucidation of Lyme arthritis. Nature reviews. Immunology. 2004;4:143-52.
22. Rupprecht TA, Koedel U, Fingerle V, Pfister HW. The pathogenesis of Lyme neuroborreliosis: from infection to inflammation. Mol Med 2008;14:205-12.
23. Rupprecht TA, Plate A, Adam M, et al. The chemokine CXCL13 is a key regulator of B cell recruitment to the cerebrospinal fluid in acute Lyme neuroborreliosis. J Neuroinflammation 2009;6:42.
24. Mygland A, Ljostad U, Fingerle V, Rupprecht T, Schmutzhard E, Steiner I, et al. EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis. Eur J Neurol 2010;17:8-16, e11-14.
25. Feder HM, Jr., Johnson BJ, O'Connell S, Shapiro ED, Steere AC, Wormser GP, et al. A critical appraisal of "chronic Lyme disease". N Engl J Med 2007;357:1422-30.
26. Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, Halperin JJ, Steere AC, Klempner MS, et al. The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2006;43:1089-134.
27. Stanek G, Fingerle V, Hunfeld KP, Jaulhac B, Kaiser R, Krause A, et al. Lyme borreliosis: clinical case definitions for diagnosis and management in Europe. Clin Microbiol Infect 2011;17:69-79.
28. Klempner MS, Hu LT, Evans J, et al. Two controlled trials of antibiotic treatment in patients with persistent symptoms and a history of Lyme disease. N Engl J Med 2001;345:85-92.
29. Kaplan RF, Trevino RP, Johnson GM, et al. Cognitive function in post-treatment Lyme disease: do additional antibiotics help? Neurology 2003;60:1916-22.

30. Krupp LB, Hyman LG, Grimson R, et al. Study and treatment of post Lyme disease (STOP-LD): a randomized double masked clinical trial. *Neurology* 2003;60:1923-30.
31. Fallon BA, Keilp JG, Corbera KM, et al. A randomized, placebo-controlled trial of repeated IV antibiotic therapy for Lyme encephalopathy. *Neurology* 2008;70:992-1003.
32. Berende A, ter Hofstede H, Vos F, van Middendorp H, Kessels RP, Adang EM, et al. Persistent Lyme Empiric Antibiotic Study Europe (PLEASE) - a randomized controlled trial of prolonged antibiotic treatment in patients with persistent symptoms attributed to Lyme borreliosis. *BMC Infect Dis* 2014;14:543.
33. Ljostad U, Mygland A. Remaining complaints 1 year after treatment for acute Lyme neuroborreliosis; frequency, pattern and risk factors. *Eur J Neurol* 2010;17:118-23.
34. Londono D, Cadavid D, Drouin EE, Strle K, McHugh G, Aversa JM, et al. Antibodies to endothelial cell growth factor and obliterative microvascular lesions in the synovium of patients with antibiotic-refractory Lyme arthritis. *Arthritis Rheumatol* 2014;66:2124-33.
35. Steere AC, Gibofsky A, Patarroyo ME, Winchester RJ, Hardin JA, Malawista SE. Chronic Lyme arthritis. Clinical and immunogenetic differentiation from rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med.* 1979;90(6):896-901.
36. Steere AC, Falk B, Drouin EE, Baxter-Lowe LA, Hammer J, Nepom GT. Binding of outer surface protein A and human lymphocyte function-associated antigen 1 peptides to HLA-DR molecules associated with antibiotic treatment-resistant Lyme arthritis. *Arthritis Rheumatism* 2003;48:534-40.
37. Nardelli DT, Callister SM, Schell RF. Lyme arthritis: current concepts and a change in paradigm. *Clin Vaccine Immunol* 2008;15:21-34.
38. Li X, McHugh GA, Damle N, Sikand VK, Glickstein L, Steere AC. Burden and viability of *Borrelia burgdorferi* in skin and joints of patients with erythema migrans or Lyme arthritis. *Arthritis Rheumatism* 2011;63:2238-47.
39. Steere AC, Drouin EE, Glickstein LJ. Relationship between immunity to *Borrelia burgdorferi* outer-surface protein A (OspA) and Lyme arthritis. *Clin Infect Dis* 2011;52 Suppl 3:S259-65.
40. Shin JJ, Glickstein LJ, Steere AC. High levels of inflammatory chemokines and cytokines in joint fluid and synovial tissue throughout the course of antibiotic-refractory Lyme arthritis. *Arthritis Rheumatism* 2007;56:1325-35.
41. Drouin EE, Seward RJ, Strle K, et al. A novel human autoantigen, endothelial cell growth factor, is a target of T and B cell responses in patients with Lyme disease. *Arthritis Rheumatism* 2013;65:186-96.
42. Steere AC, Angelis SM. Therapy for Lyme arthritis: strategies for the treatment of antibiotic-refractory arthritis. *Arthritis Rheumatism* 2006;54:3079-86.

CURSUSAANKONDIGINGEN

2nd Course on Principles of Molecular Microbiological Diagnostics

Van 20-22 januari 2016 zal de 2nd Course on Principles of Molecular Microbiological Diagnostics, een ESCMID postgraduate education course, in Maastricht plaatsvinden. Voor meer informatie wordt verwezen naar <https://www.escmid.org/index.php?id=2017>, de website van de ESCMID.

Serologiecursus 2016 – Haal eruit wat erin zit

In het voorjaar van 2016 gaat het weer gebeuren! Dan zal inmiddels de derde editie van de serologiecursus plaatsvinden in Casa400 te Amsterdam. Van 15 tot en met 17 maart zullen we weer aandacht besteden aan de belangrijkste thema's in de infectieziektenserologie.

Het organiserend comité heeft een mooi programma samengesteld dat kan voldoen aan de behoeftes van zowel arts-assistenten in opleiding als medisch specialisten. Deze cursus is, met de ervaring van de eerste twee edities, nog beter ingericht op de wens van cursist (mede dankzij de feedback die is ontvangen). Ook voor deze cursus hebben we weer een groot aantal experts van onder ander universitaire centra, het RIVM en het Kennisinstituut voor de tropen weten te strikken om hun kennis met jullie te delen. Naast een leerzame drie dagen zal ook het sociale aspect niet worden vergeten met onder andere een diner op woensdag.

De eerste dag zal de nadruk liggen op het laboratorium en de theoretische basis en achtergronden van de serodiagnostiek. De tweede dag wordt er aandacht besteed aan serologie bij de immuungecompromitteerde en zwangere patiënt en zullen ook tropische infecties de revue passeren. Dag drie wordt besteed aan serologie na vaccinaties, centraalenzuwtelsel infecties en hepatitis. Cursisten kunnen zich inschrijven voor de gehele cursus of een losse dag. We hopen jullie te zien in maart!

Katrijn Rensing, Joffrey van Prehn, Maysa van Doorn-Schepens, Aletta Tholen, Wim Ang en Jean-Luc Murk

Outbreakonderzoek

Outbreaks komen altijd onverwacht. Volg deze module om inzicht te krijgen in de epidemiologische en operationele stappen in een outbreakonderzoek en breng deze vaardigheden in de praktijk.

Voor wie: artsen infectieziektebestrijding, bedrijfsartsen, huisartsen, dierenartsen en medisch microbiologen die in de praktijk te maken (kunnen) hebben met infectieziektebestrijding of die hun kennis op dat gebied willen vergroten.

Data: 2, 9 en 16 februari, 8 en 17 maart 2016

Kosten: € 1540

Locatie: Utrecht

Inlichtingen: tel.: 030-8100500, e-mail: info@nspoh.nl

Virale myocarditis

C. Herkert¹, J. Rijks¹, S.R.B. Heymans, M.R. Hazebroek

Samenvatting

Myocarditis is een veelvoorkomende oorzaak van gedilateerde cardiomyopathie en plotse hartdood waar momenteel geen specifieke therapie voor beschikbaar is. In ontwikkelde landen is het hoofdzakelijk het gevolg van een cardiotrope virale infectie gevolgd door activatie van het immuunsysteem. Deze immuunrespons kan variëren van een geringe voorbijgaande reactie tot een snel uitbreidende, overweldigende cellulaire infiltratie met destructie van myocardweefsel. Belangrijker is nog dat postinfectieuze auto-immuniteit kan aanhouden ondanks effectieve virusklaring.

Door de heterogene klinische presentatie en verschillende oorzaken is het moeilijk om de juiste diagnostiek in te zetten. Vooruitgang in cardiale MRI en moleculaire detectie van virussen door middel van hartbiopten hebben geleid tot verbeterde diagnostiek en pathofysiologisch inzicht. Desalniettemin ontbreken gevalideerde therapeutische opties momenteel zowel in de acute als chronische fase van myocarditis. Hoewel een aantal gerandomiseerde studies met immunosuppressieve of immunomodulerende behandelstrategieën een mogelijk positief effect hebben laten zien, is toekomstig onderzoek noodzakelijk. In dit overzichtsartikel wordt ingegaan op de pathogenese van virale myocarditis, de rol van het immuunsysteem en experimentele en toekomstige behandelstrategieën.

Summary

Myocarditis is a frequent cause of dilated cardiomyopathy and sudden cardiac death for which no specific treatments are available. In developed countries, it typically results from cardiotropic viral infection, triggering the host immune response. This response may range from a minimally transient response to fulminant overwhelming cellular infiltration with destruction of myocardium. Incomplete viral clearance by the immune system results in chronic infection with or without accompanying inflammation. Importantly, post-infectious autoimmunity may persist despite effective virus clearance.

Due to its heterogeneous clinical presentations and diverse etiologies, choosing the correct diagnostics remains difficult. Advances in cardiac MRI and molecular detection of viruses by endomyocardial biopsy have improved diagnostic and pathophysiologic insights.

Nevertheless, validated therapeutic options are lacking in viral myocarditis. Several randomized studies have demonstrated potential benefit with immunosuppressive or immunomodulating therapies, however future research is necessary. This review will focus on the pathogenesis of viral myocarditis and the role of the immune system herein. In addition, future treatment options will be discussed.

Introductie

Myocarditis is een inflammatoire ziekte van de hartspier waarbij de diagnose berust op gevalideerde histologische, immunologische en immunohistochemische criteria.¹ De meest voorkomende oorzaak is een virale infectie van het myocard, maar ook niet-infectieuze oorzaken komen voor (*tabel 1*).¹ Een verscheidenheid aan virussen is aangetoond bij humane virale myocarditis, waaronder entero- en adenovirussen, parvovirus B19 (PVB19) en humaan herpesvirus-6 (HHV-6).² Een grote populatiestudie heeft door middel van serologie op basis van IgG-antistoffen aangetoond dat ongeveer 90 procent van de volwassen geïnfecteerd raakt met PVB19.³ Echter, slechts een klein gedeelte zal uiteindelijk cardiale symptomen ontwikkelen. Hierbij speelt virale vatbaarheid, mogelijk door genetische predispositie, een belangrijke rol.

In de alledaagse praktijk wordt de diagnose myocarditis vaak gesteld op basis van klinische presentatie, bloedonderzoek en beeldvormende technieken. Een definitieve diagnose kan alleen gesteld worden door middel van een hartbiopt (*figuur 1*), een ingreep die ondersteund wordt door internationale comités.¹ Hartbiopten worden beschouwd als de gouden standaard bij de diagnostiek naar myocarditis. Biopten worden echter zelden afgenomen, ondanks dat er duidelijke definities zijn opgesteld en myocarditis geassocieerd is met verhoogde morbiditeit en mortaliteit. De grote verscheidenheid aan oorzaken, de

C. Herkert, J. Rijks, S.R.B. Heymans, M.R. Hazebroek, Maastricht Universitair Medisch Centrum, Maastricht. Correspondentieadres: M.R. Hazebroek, Center for Heart Failure Research, Cardiovascular Research Institute Maastricht (CARIM), Maastricht Universitair Medisch Centrum, Maastricht, tel.: 043-3884304, fax: 043-3882952, e-mail: mark.hazebroek@mumc.nl.

¹Auteurs hebben evenredig bijgedragen.

Tabel 1. Meest voorkomende oorzaken van myocarditis.*

Oorzaken	Subgroepen	Voorbeelden
Infectieus	Viraal	Adenovirussen, echovirussen, enterovirussen (bijvoorbeeld coxsackievirus), herpesvirussen (humaan cytomegalovirus, epstein-barrvirus, humaan herpesvirus-6), hepatitis C-virus, hiv, influenza A, parvovirus B19
	Bacterieel	<i>Chlamydia</i> , <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , <i>Legionella</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Mycoplasma</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus A</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>
	Schimmels	<i>Actinomyces</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i>
	Wormen	<i>Echinococcus granulosus</i> , schistosomen, <i>Trichinella spiralis</i>
	Protozoa	<i>Toxoplasma gondii</i> , <i>Trypanosoma cruzi</i>
	Rickettsia	<i>Coxiella burnetii</i> , <i>Rickettsia typhi</i>
	Spirocheten	<i>Borrelia burgdorferi</i> , leptospirose, <i>Treponema pallidum</i>
Niet-infectieus	Auto-immuunziekten	Coeliakie, ziekte van Crohn, colitis ulcerosa, vasculitis (churg-strauss- en wegengergranulomatose, ziekte van Kawasaki), dermatomyositis, reuscelmyocarditis, hypereosinofiel syndroom, lupus erythematoses, eosinofiele myocarditis, rhumatoïde artritis, sarcoïdose, scleroderma
	Toxisch	Antracyclines, 5-fluorouracil, trastuzumab, cocaïne, amfetamine, ethanol, catecholamines
	Hypersensitiviteit	Penicilline, cefalosporine, tetracyclines, sulfonamiden, benzodiazepines, tricyclische antidepressiva, diuretica
	Overig	Arseen, koper, ijzer, radiotherapie

* Virale infectie is de meest voorkomende etiologie, maar ook andere oorzaken van myocarditis zijn opgenomen.

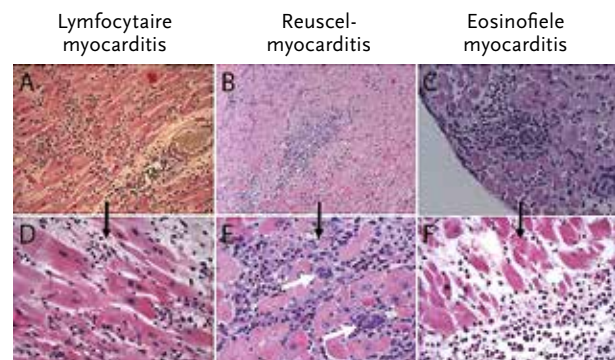
heterogene presentatie en het relatief hoge percentage (70 tot 80 procent) van spontaan herstel dragen hier mogelijk aan bij. Desalniettemin leidt myocarditis in 20 tot 30 procent van de gevallen tot gedilateerde cardiomyopathie (DCM)⁴ en is verantwoordelijk voor 12 procent van de plotselinge sterfte van jongvolwassenen.⁵ Kinderen met acute myocarditis hebben zelfs maar 60 procent kans op overleving zonder harttransplantatie na 10 jaar.⁶ Onderzoek naar pathofysiologie en daaruit voortvloeiende behandelstrategieën is daarom essentieel om de prognose van deze relatief jonge patiënten te verbeteren. In dit overzichtsartikel wordt inzicht gegeven in de pathogenese van virale myocarditis, de rol van het immuunsysteem en experimentele en toekomstige behandelstrategieën.

Pathogenese

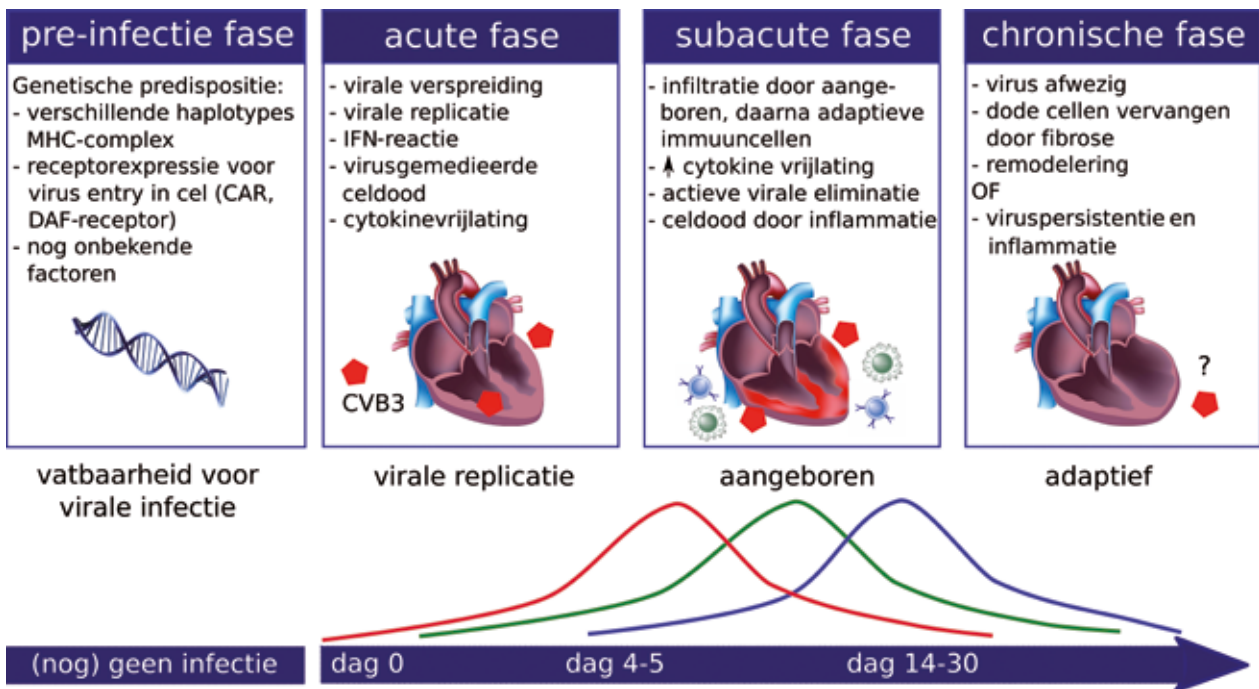
Myocarditis en de mogelijk daaropvolgende cardiomyopathie, kunnen zowel infectieuze als niet-infectieuze oorzaken hebben (tabel 1), met virusinfectie als meest voorkomende oorzaak in Europa en Amerika. PVB19 en HHV-6 zijn de meest voorkomende virussen bij humane virale myocarditis.^{7,8} Hoewel beide virussen ook in het hart worden gevonden bij gezonde of niet-cardiaal belaste patiënten,^{9,10} lijkt vooral de virale load en niet zozeer de aanwezigheid van het virus van belang.⁷ Pathofysiologisch zijn drie opeenvolgende fases te onderscheiden, voorafgegaan door een pre-infectiefase (figuur 2).^{2,11} De pre-infectiefase is van belang omdat vatbaarheid hierin een

belangrijke rol speelt. Fase 1 (acute fase) wordt gekenmerkt door cardiomyocytolyse ten gevolge van virusinfectie en replicatie, met daarbij activatie van het aangeboren immuunsysteem. De adaptieve immuunrespons staat centraal in fase 2 (subacute fase) met een shift van humoraal naar cellulair, waarbij immuundisregulatie kan plaatsvinden indien het virus niet volledig wordt geëlimineerd. In fase 3 (chronische fase) ontstaat remodelering van het hart door persisterende inflammatie, uiteindelijk leidend tot het fenotype DCM. De meeste pathofysiologische kennis van virale myocarditis komt voort uit muizenstudies met

Figuur 1. Hartbiopten van een patiënt met virale myocarditis. Witte pijlen: reuscellen



Figuur 2. Pathogenese van myocarditis door coxsackievirus. Aangepast van: Corsten MF, Schroen B, Heymans S. Inflammation in viral myocarditis: friend or foe? Trends Mol Med. 2012;18:426-37. Met toestemming van Elsevier Publisher.



Chronologische fasen van myocarditis als gevolg van coxsackievirus. Pre-infectie fase heeft betrekking op de vatbaarheid van de cel voor infectie door het virus. Het virus bindt aan de DAF-receptor op het celmembraan, waarna het virus getransporteerd wordt naar de CAR, gelokaliseerd op cel-celverbindingen. Het complex wordt geïnternaliseerd en virale replicatie neemt een aanvang, evenals activatie van het (aangeboren) immuunsysteem. Tijdens de acute fase replicateert het virus (rode vijfhoek) en veroorzaakt celdood van myocardiocellen door lysis en lokale productie van cytokines. Tijdens deze fase is de inflammatoire reactie voornamelijk beschermend voor het hart. Cytokines zorgen dan voor infiltratie van immuuncellen (eerst aangeboren, dan adaptief) gedurende de subacute fase. Deze inflammatoire cellen houden zich bezig met viruseliminatie, maar dragen ook sterk bij aan de cardiale schade. In de chronische fase leidt viruseliminatie tot remming van het immuunsysteem door anti-inflammatoire macrofagen en regulatoire T-cellen. Deze cellen stimuleren bovendien herstelprocessen zoals fibrotische remodelering. De prognose wordt bepaald door de omvang van irreversibele schade opgelopen tijdens de acute en subacute fasen. Omgekeerd, leidt viruspersistentie (replicerend of niet-replicerend) tot chronische inflammatie en progressieve cardiale disfunctie.

MHC = major histocompatibility complex; CAR = coxsackievirus- en adenovirusreceptor; DAF = decay accelerating factor; CVB₃ = coxsackievirus B₃; IFN = interferon

enterovirussen. Muizenmodellen met PVB19 en HHV-6 zijn wel in ontwikkeling maar nog niet beschikbaar. Deze ontwikkeling is essentieel voor het pathofysiologisch begrip, daar enterovirussen voornamelijk de cardiomyocyt infecteren en PVB19 juist de endotheelcellen.

Fase 0, de pre-infectiefase

Vatbaarheid voor virale myocarditis blijft een uitdagend onderzoeksveld. Verschillende dierenstudies hebben ondervoeding, zwangerschap, leeftijd, lichaamsbeweging en bepaalde geslachtshormonen als mogelijk bijdragende factoren aangetoond.¹¹ Op genetisch niveau speelt het 'major histocompatibility complex' (MHC) een belangrijke rol. Verschillende haplotypes van dit MHC-complex leiden tot verhoogde vatbaarheid voor virale myocarditis.¹² Daarnaast zijn de 'decay accelerating factor' (DAF), bij infectie met coxsackievirus, en coxsackie- en adenovirusreceptor (CAR) essentieel voor infectie (figuur 2).^{13,14} Bij afwezigheid van deze receptoren is de kans op infectie minimaal. Tevens is aangetoond dat verworven aandoeningen kunnen leiden tot verhoogde vatbaarheid, zoals seleniumdeficiëntie.¹⁵

Fase 1: initiële myocardschade en aangeboren immuunreactie

Fase 1 wordt gekenmerkt door directe myocardschade ten gevolge van virusgemedieerde cellulys en als gevolg van de aangeboren immuunreactie. Naast de CAR maken coxsackievirussen ook gebruik van de DAF-receptor en adenovirussen van verschillende integrines.¹¹ Het coxsackievirus bindt aan de DAF-receptor op het oppervlak van de gastheer cel, waardoor er een interactie optreedt tussen het virus en de CAR, welke gelokaliseerd is bij een 'tight junction' die normaal geen doorgang biedt aan virussen. Activatie van Abl-kinase, gegenereerd door binding van het virus aan DAF, leidt tot een verandering in het actine, waardoor het virus infiltreert in de cel.¹⁴ HHV-6 maakt gebruik van de CD46-receptor op de cardiomyocyt. Ook CAR-onafhankelijke adenovirussen maken gebruik van deze receptor.⁸ Voor PVB19 is globoside, ook bekend als P-antigeen, de belangrijkste receptor.¹⁶ Alfa-5-beta-1-integrine en Ku80 zijn coreceptoren voor de entree van PVB19 in de cel.^{17,18} Nadat het PVB19 gebonden is aan deze receptoren wordt het geïnternaliseerd en getransporteerd richting nucleus van de gastheer cel. Hier komt het viraal

genoom vrij, dat vervolgens de nucleus binnengaat. De cellulaire mechanismen worden hier gebruikt om het virale genoom te reproduceren. Gereproduceerd PVB19-genoom wordt verpakt in een eiwitmantel alvorens het virion wordt vrijgemaakt.

In de eerste 4 tot 5 dagen na infectie, nog voordat de adaptieve immuunrespons geactiveerd wordt, begint de strijd tussen het virus en het immuunsysteem van de gastheer. Dit is een kritiek moment; wanneer het aangeboren immuunsysteem ineffectief is en het virus niet geëlimineerd wordt, kan chronische myocarditis ontstaan met uiteindelijk evolutie naar DCM. Het aangeboren immuunsysteem wordt geactiveerd door zowel virusdirecte proteolytische myocardschade alsook de herkenning van viruspatronen (ziekteverwekkergeassocieerde moleculaire patronen) door middel van cardiale toll-like receptoren.¹⁹ Dit leidt uiteindelijk tot verhoogde expressie van pro-inflammatoire cytokines zoals interleukine-1 β (IL-1 β), IL-6, IL-18, tumornecrosefactor- α , en type I- en II-interferonen (IFN), waarbij type I-IFN's (IFN- α en IFN- β) met name belangrijk zijn voor de vroege antivirale reactie. Al deze cytokines worden geproduceerd door cellen in het hart, zoals cardiomyocyten, fibroblasten, endotheelcellen en dendritische cellen. Daarnaast activeren deze cytokines lokale macrofagen en zorgen voor tot expressie brengen van zowel endothele adhesiemoleculen als chemokines om aangeboren immuuncellen collectief te rekruteren naar het aangedane gebied.²⁰

Na deze eerste periode neemt de cellulaire immuunrespons het over. Kenmerkend hiervoor is infiltratie van T-lymfocyten in het hart. Dit resulteert in het opruimen van cardiomyocyten die door een virus zijn geïnfecteerd, maar leidt ook tot myocardschade ten gevolge van T-celgedemedieerde necrose.

De effectiviteit van deze immuunrespons speelt een rol in de prognose van de patiënten. Een effectieve immuunrespons zonder virale persistentie kan leiden tot een grote mate van herstel. Zo correleert een hoge concentratie van markers als cardiaal IgG, kenmerkend voor een effectieve immuunrespons, met een betere prognose.²¹

Fase 2: adaptieve immuunreactie

Het adaptieve immuunsysteem reageert op de specifieke herkenning van antigenen door klonale expansie van antigeenspecifieke T- en B-lymfocyten, resulterend in respectievelijk de cellulaire en humorale immuunrespons. Neutralisatie van het pathogeen door het adaptieve immuunsysteem is meer ontwikkeld dan bij het aangeboren immuunsysteem, en de bijdrage aan myocardschade is meer complex. De ontwikkeling van autoreactiviteit draagt mogelijk aanmerkelijk bij aan de ernst van de myocardschade.²² Deze autoreactiviteit kan enerzijds optreden door toegenomen blootstelling aan autoantigenen van afgestorven cellen, die zelfreactieve T-cellen kunnen

activeren die negatieve selectie tijdens lymfocytenrijping hebben ondoken. Anderzijds kunnen overeenkomsten tussen virale epitopen en gastheereiwitten leiden tot kruisreactiviteit, door moleculaire mimicry.^{22,23} Bij langere blootstelling aan het virus is de kans op autoreactiviteit hoger.²⁴

Fase 3: remodelering van het hart

De laatste fase wordt gekenmerkt door remodelering van het hart, vaak in afwezigheid van replicerend of detecteerbaar virus in het myocard. Apoptotische cardiomyocyten worden vervangen door diffuus fibrotisch weefsel, en circulerende kruisreactieve autoantilichamen zorgen voor (laaggradige) persisterende inflammatie, met uiteindelijk de ontwikkeling van DCM.

Diagnostiek

Omdat een volledig overzicht van de diagnostiek naar myocarditis¹ niet binnen het kader van deze review valt, zal een beknopte samenvatting worden gegeven.

Specifieke serologische biomarkers voor de diagnose van myocarditis zijn momenteel niet beschikbaar. Desalniettemin kunnen troponines en creatininekinase, biomarkers die vrijkomen bij schade aan en dood van cardiomyocyten, een hoge verdenking geven op acute myocarditis indien een coronair angiogram geen significante afwijkingen laat zien.^{1,25} Inflammatoire markers zoals C-reactief proteïne, IL-10 en TNF- α zijn weinig specifiek, waarbij IL-10 met name prognostisch van belang lijkt te zijn.²⁶ B-type natriuretisch peptide (BNP) en N-terminaal proBNP komen vrij bij rek op de ventrikels. Beide hebben een hoge sensitiviteit en specificiteit voor het voorspellen van algemeen hartfalen, waaronder DCM, maar onderscheiden de onderliggende oorzaak van hartfalen niet. Daarnaast heeft virusserologie een beperkte waarde, zoals al eerder besproken.

Het ECG bij myocarditis kan verscheidene aspecifieke afwijkingen geven, waaronder sinustachycardie, atrioventriculaire geleidingsstoornissen, atriale en ventriculaire ritmestoornissen, en ST-elevaties. Echocardiografie wordt voornamelijk verricht om andere cardiale problematiek uit te sluiten, zoals kleplijden. Daarnaast geeft het wel inzicht in de ernst van myocardschade door de ejectiefractie en dilatatie van de ventrikels te evalueren. De cardiale MRI speelt een steeds belangrijkere rol bij de diagnostiek naar myocarditis, met name omdat weefseltypering mogelijk is. Door middel van T2-gewogen beelden kan oedeem worden vastgesteld. Zogeheten 'early' en 'late enhancement'-opnames na toediening van contrast kunnen fibrose vaststellen en onderscheid maken tussen een ischemische of niet-ischemische cardiomyopathie. Recent zijn ook specifieke criteria opgesteld voor de diagnose van myocarditis met een diagnostische nauwkeurigheid van 78 procent.²⁷

Ook al hebben de genoemde individuele parameters vaak een beperkte waarde voor de diagnostiek van myocarditis,

kan een combinatie van de klinische presentatie, serologische biomarkers en beeldvormende technieken resulteren in een zeer sterke verdenking op myocarditis. Desalniettemin blijft hartbiopsie de gouden standaard voor de definitieve diagnose.¹ Met behulp van histologische, immunologische en immunohistochemische kleuringen kan zowel acute als chronische inflammatie worden aangetoond. Door tevens naar infectieuze oorzaken te kijken, in westerse landen veelal virussen, kan een specifieke etiologie voor de ontsteking getypeerd worden.

Behandeling

Preventieve behandeling in de pre-infectiefase door middel van immunisatie tegen coxsackievirus is al succesvol toegepast in muizenmodellen.²⁸ Een succesvolle immunisatie bij de mens is echter uitdagend omdat het aantal cardiotrope virussen aanzienlijk is en het – nog belangrijker – onduidelijk is welke mensen vatbaar zijn voor (virale) myocarditis. Dit maakt immunisatie een duur en tijdrovend proces, dat hoogstwaarschijnlijk niet zal opwegen tegen de voordelen.

De behandeling van myocarditis bestaat momenteel uit conventionele hartfalentherapie gebaseerd op de richtlijn van de European Society of Cardiology (ESC).²⁹ Recent is deze behandelstrategie voor algemeen hartfalen ook bevestigd voor patiënten bij wie myocarditis door middel van een hartbiopsie is aangetoond, waarbij ACE-remmers en bètablokkers onafhankelijk geassocieerd waren met verbetering van de linkerventrieklejectiefractie (LVEF).⁴ Ondersteunende therapie bij hemodynamisch instabiele patiënten, met name in de acute fase, vindt plaats met een intra-aortale ballonpomp en/of extracorporale membraanoxygenatie. In zeldzame gevallen is implantatie van een steunhart nodig, ter overbrugging naar een harttransplantatie (figuur 3).³⁰

Etiologiegerichte behandeling

Immunosuppressieve behandeling

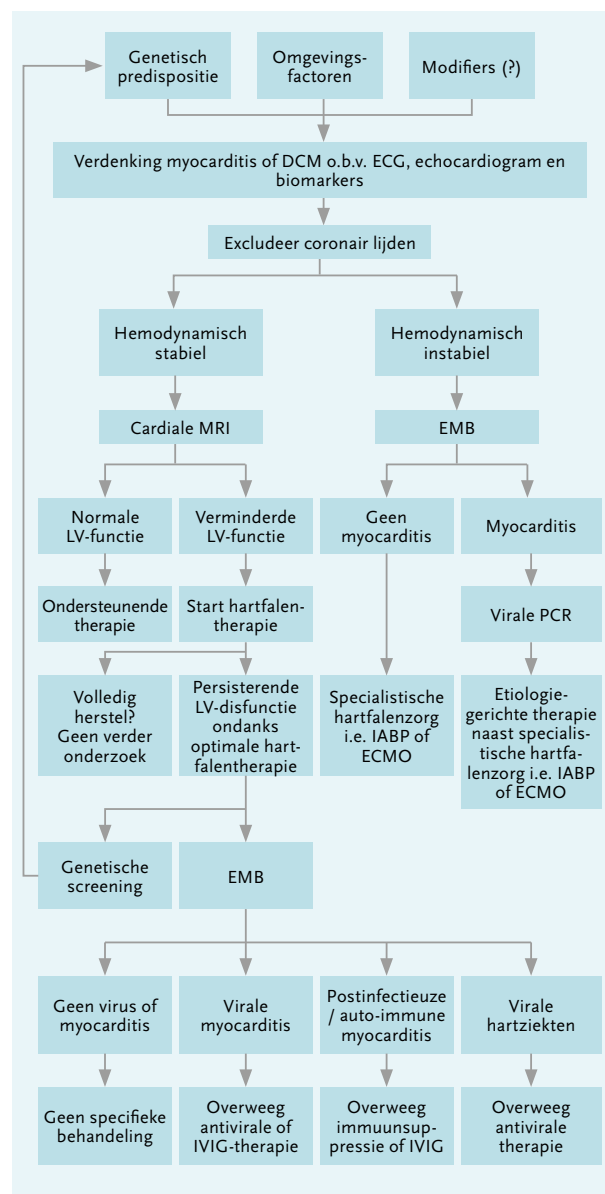
De laatste jaren is er steeds meer bewijs voor de effectiviteit van etiologiegerichte behandelingen.³¹⁻³⁶ Eén van de eerste trials was de Myocarditis Treatment Trial die 111 patiënten met door biopsie aangetoonde myocarditis, symptomen < 24 maanden, en LVEF < 35 procent randomiseerde naar conventionele dan wel immunosuppressieve therapie in de vorm van prednison met azathioprine of ciclosporine.²¹ Na één jaar behandeling was geen significant verschil in mortaliteit en LVEF-verbetering tussen beide groepen te zien. Echter, zowel immunohistochemie als virusdetectie werden niet uitgevoerd in deze trial, waardoor patiënten met persisterende virusinfectie mogelijk zijn behandeld met immunosuppressiva. Dat stratificatie tussen viruspositieve en virusnegatieve hartbiopsien essentieel is, heeft de TIMIC-studie laten zien.³⁵ Hierin werden 85 myocarditispatiënten bij wie een hartbiopsie geen virale oorzaak had

aangetoond gerandomiseerd naar placebo of prednison met azathioprine. Significante verbetering van LVEF en linkerventriekdimensies werd geobserveerd na zes maanden bij patiënten die immunosuppressieve therapie ontvingen. Daarnaast laten patiënten met auto-immuunmyocarditis (reuscelmyocarditis) een uitermate positieve reactie zien op glucocorticosteroiden en immunosuppressieve therapie.³⁷

Immunomodulerende behandeling

Intraveneuze immunoglobulines zijn een sterk immunomodulerende therapie die veelal gebruikt wordt bij patiënten met auto-immuunziekten. De rol van deze

Figuur 3. Algoritme voor diagnostiek en behandeling myocarditis.



DCM = gedilateerde cardiomyopathie; ECG = electrocardiogram; EMB = endomyocardiaal biopsie; LV = linker ventrikel; IABP = intra-aortale ballonpomp; ECMO = extracorporale membraanoxygenatie; IVIG = intraveneuze immunoglobulines

middelen bij myocarditis blijft grotendeels experimenteel. Een dubbelblinde gerandomiseerde studie bij 62 patiënten met recent ontstane DCM (minder dan 6 maanden geleden) liet geen voordeel zien in mortaliteit of LVEF na 6 en 12 maanden follow-up. Virusdetectie was echter niet uitgevoerd en slechts in 16 procent van de gevallen was myocarditis door een biopt aangetoond.³² Een mogelijk voordeel van intraveneuze immunoglobulines werd aangetoond in een gerandomiseerde trial van 40 chronische DCM-patiënten, waarbij een significante verbetering werd gezien in LVEF en een toename van de plasmaconcentratie van anti-inflammatoire mediators.³³ Hartbiopten ontbraken echter bij deze studie. Een recente pilotstudie van 17 patiënten met PVB19-gerelateerde cardiomyopathie liet een positief effect zien in LVEF en een significante verlaging van PVB19 load na 6 maanden follow-up.³⁶ Dit heeft geleid tot het starten van een gerandomiseerde studie waar binnenkort de resultaten van volgen (NCT00892112).

Daarnaast laten studies met intraveneuze immunoglobulines bij kinderen met myocarditis of DCM een duidelijke verbetering van LVEF en overleving zien.^{38,39} Desalniettemin is het bewijs voor intraveneuze immunoglobulines bij myocarditis of DCM bij volwassenen nog onvoldoende om definitieve conclusies te trekken over de effectiviteit van dit middel.

Antivirale therapie

Gevalideerde op het pathogeen gerichte of antivirale therapie bestaat momenteel niet voor patiënten met virale myocarditis. Behandeling met aciclovir, ganciclovir of valganciclovir voor herpesvirusinfecties kan overwogen worden, maar de effectiviteit bij myocarditis is nooit getest. Viruseliminatie die spontaan optreedt dan wel als gevolg van behandeling met IFN- β is geassocieerd met klinische en hemodynamische verbetering bij myocarditis-patiënten,³⁴ waarbij persistentie van het virus geassocieerd is met een slechte prognose.⁴⁰ Deze therapie lijkt echter minder effectief in het geval van infectie met PVB19. Al met al zijn grote gerandomiseerde studies nodig om de effectiviteit van antivirale behandeling bij myocarditis-patiënten te bevestigen.

Nieuwste ontwikkelingen

Een toekomstige rol voor zowel diagnostiek als behandeling kan weggelegd zijn voor micro-RNA's, korte niet-coderende RNA-sequenties die genexpressie reguleren en daarmee een essentiële rol spelen in verschillende cellulaire processen in het hart. Twee micro-RNA's (miR-449 en miR-208b) correleren met de ernst van humane virale myocarditis,⁴¹ waarbij miR-155 en miR-221 belangrijk zijn in de regulatie van cardiale inflammatie.^{42,43} In de toekomst zouden beide kunnen dienen als

therapeutische targets, zoals momenteel al getest wordt voor andere virale ziektes waaronder hepatitis C.⁴⁴

Ten slotte zullen de ontwikkelingen in genetische screening met gebruikmaking van biomarkers die op grote schaal kunnen worden uitgevoerd (bijvoorbeeld 'proteomics', 'transcriptomics', 'metabolomics', 'micro-RNA-omics') de komende jaren een bijdrage gaan leveren aan het ontrafelen van specifieke mechanismen die ten grondslag liggen aan de vatbaarheid voor deze ziekte. Het recente initiatief van de internationale European Society of Cardiology om een registratie aan te leggen zal hier ook aan bijdragen.

Conclusie

(Virale) myocarditis is een aandoening met een brede klinische presentatie die vooral jonge mensen treft. De pathogenese kenmerkt zich door verschillende fases, die nog niet volledig opgehelderd zijn. Toekomstig onderzoek is nodig om de effectiviteit van nieuwe behandelstrategieën die gericht zijn op de etiologie van de myocarditis te bevestigen. Daarnaast zal preventie een mogelijk belangrijke rol gaan spelen, mits de pathofysiologische mechanismen achter verhoogde vatbaarheid voor virale myocarditis achterhaald kunnen worden.

Referenties

1. Caforio AL, Pankuweit S, Arbustini E, et al. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J* 2013;34:2636-48, 2648a-2648d.
2. Dennert R, Crijns HJ, Heymans S. Acute viral myocarditis. *Eur Heart J* 2008;29:2073-82.
3. Young NS, Brown KE. Parvovirus B19. *N Engl J Med* 2004;350:586-97.
4. Anzini M, Merlo M, Sabbadini G, et al. Long-term evolution and prognostic stratification of biopsy-proven active myocarditis. *Circulation* 2013;128:2384-94.
5. Fabre A, Sheppard MN. Sudden adult death syndrome and other non-ischaemic causes of sudden cardiac death. *Heart* 2006;92:316-20.
6. Towbin JA, Lowe AM, Colan SD, et al. Incidence, causes, and outcomes of dilated cardiomyopathy in children. *JAMA* 2006;296:1867-76.
7. Bock CT, Klingel K, Kandolf R. Human parvovirus B19-associated myocarditis. *N Engl J Med* 2010;362:1248-9.
8. Kuhl U, Pauschinger M, Noutsias M, et al. High prevalence of viral genomes and multiple viral infections in the myocardium of adults with "idiopathic" left ventricular dysfunction. *Circulation* 2005;111:887-93.
9. Kuete F, Lindner J, Matschke K, et al. Prevalence of parvovirus B19 and human bocavirus DNA in the heart of patients with no evidence of dilated cardiomyopathy or myocarditis. *Clin Infect Dis* 2009;49:1660-6.
10. Schenk T, Enders M, Pollak S, et al. High prevalence of human parvovirus B19 DNA in myocardial autopsy samples from subjects without myocarditis or dilative cardiomyopathy. *J Clin Microbiol* 2009;47:106-10.
11. Yajima T, Knowlton KU. Viral myocarditis: from the perspective of the virus. *Circulation* 2009;119:2615-24.
12. Herskowitz A, Wolfgram LJ, Rose NR, et al. Coxsackievirus B3 murine myocarditis: a pathologic spectrum of myocarditis in genetically defined inbred strains. *J Am Coll Cardiol* 1987;9:1311-9.

13. Bergelson JM, Cunningham JA, Droguett G, et al. Isolation of a common receptor for Coxsackie B viruses and adenoviruses 2 and 5. *Science*. 1997;275:1320-3.
14. Coyne CB, Bergelson JM. Virus-induced Abl and Fyn kinase signals permit coxsackievirus entry through epithelial tight junctions. *Cell* 2006;124:119-31.
15. Beck MA, Shi Q, Morris VC, et al. Rapid genomic evolution of a non-virulent coxsackievirus B3 in selenium-deficient mice results in selection of identical virulent isolates. *Nat Med* 1995;1:433-6.
16. Brown KE, Anderson SM and Young NS. Erythrocyte P antigen: cellular receptor for B19 parvovirus. *Science* 1993;262:114-7.
17. Weigel-Kelley KA, Yoder MC, Srivastava A. Alpha5beta1 integrin as a cellular coreceptor for human parvovirus B19: requirement of functional activation of beta1 integrin for viral entry. *Blood* 2003;102:3927-33.
18. Munakata Y, Saito-Ito T, Kumura-Ishii K, et al. Ku80 autoantigen as a cellular coreceptor for human parvovirus B19 infection. *Blood* 2005;106:3449-56.
19. Mann DL. The emerging role of innate immunity in the heart and vascular system: for whom the cell tolls. *Circ Res* 2011;108:1133-45.
20. Papageorgiou AP, Heymans S. Interactions between the extracellular matrix and inflammation during viral myocarditis. *Immunobiology* 2012;217:503-10.
21. Mason JW, O'Connell JB, Herskowitz A, et al. A clinical trial of immunosuppressive therapy for myocarditis. The Myocarditis Treatment Trial Investigators. *N Engl J Med* 1995;333:269-75.
22. Huber SA. Autoimmunity in coxsackievirus B3 induced myocarditis. *Autoimmunity* 2006;39:55-61.
23. Massilamany C, Huber SA, Cunningham MW, et al. Relevance of molecular mimicry in the mediation of infectious myocarditis. *J Cardiovasc Transl Res* 2014;7:165-71.
24. Schultheiss HP, Kuhl U, Cooper LT. The management of myocarditis. *Eur Heart J* 2011;32:2616-25.
25. Lauer B, Niederau C, Kuhl U, et al. Cardiac troponin T in patients with clinically suspected myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:1354-9.
26. Nishii M, Inomata T, Takehana H, et al. Serum levels of interleukin-10 on admission as a prognostic predictor of human fulminant myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1292-7.
27. Friedrich MG, Sechtem U, Schulz-Menger J, et al. Cardiovascular magnetic resonance in myocarditis: A JACC White Paper. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:1475-87.
28. Dan M, Chantler JK. A genetically engineered attenuated coxsackievirus B3 strain protects mice against lethal infection. *J Virol* 2005;79:9285-95.
29. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J* 2012;33:1787-847.
30. Maisch B, Ruppert V, Pankuweit S. Management of fulminant myocarditis: a diagnosis in search of its etiology but with therapeutic options. *Curr Heart Fail Rep* 2014;11:166-77.
31. Felix SB, Staudt A, Dorffel WV, et al. Hemodynamic effects of immunoadsorption and subsequent immunoglobulin substitution in dilated cardiomyopathy: three-month results from a randomized study. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:1590-8.
32. McNamara DM, Holubkov R, Starling RC, et al. Controlled trial of intravenous immune globulin in recent-onset dilated cardiomyopathy. *Circulation* 2001;103:2254-9.
33. Gullestad L, Aass H, Fjeld JG, et al. Immunomodulating therapy with intravenous immunoglobulin in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2001;103:220-5.
34. Kuhl U, Pauschinger M, Schwimmbeck PL, et al. Interferon-beta treatment eliminates cardiotropic viruses and improves left ventricular function in patients with myocardial persistence of viral genomes and left ventricular dysfunction. *Circulation* 2003;107:2793-8.
35. Frustaci A, Russo MA, Chimenti C. Randomized study on the efficacy of immunosuppressive therapy in patients with virus-negative inflammatory cardiomyopathy: the TIMIC study. *Eur Heart J* 2009;30:1995-2002.
36. Dennert R, Velthuis S, Schalla S, et al. Intravenous immunoglobulin therapy for patients with idiopathic cardiomyopathy and endomyocardial biopsy-proven high PVB19 viral load. *Antivir Ther* 2010;15:193-201.
37. Cooper LT, Jr., Berry GJ, Shabetai R. Idiopathic giant-cell myocarditis--natural history and treatment. Multicenter Giant Cell Myocarditis Study Group Investigators. *N Engl J Med* 1997;336:1860-6.
38. Prasad AN, Chaudhary S. Intravenous immunoglobulin in children with acute myocarditis and/or early dilated cardiomyopathy. *Indian Pediatr* 2014;51:583-4.
39. Drucker NA, Colan SD, Lewis AB, et al. Gamma-globulin treatment of acute myocarditis in the pediatric population. *Circulation* 1994;89:252-7.
40. Kuhl U, Pauschinger M, Seeborg B, et al. Viral persistence in the myocardium is associated with progressive cardiac dysfunction. *Circulation* 2005;112:1965-70.
41. Corsten MF, Dennert R, Jochems S, et al. Circulating MicroRNA-208b and MicroRNA-499 reflect myocardial damage in cardiovascular disease. *Circ Cardiovasc Genet* 2010;3:499-506.
42. Corsten MF, Papageorgiou A, Verheesen V, et al. MicroRNA profiling identifies microRNA-155 as an adverse mediator of cardiac injury and dysfunction during acute viral myocarditis. *Circ Res* 2012;111:415-25.
43. Corsten M, Heggermont W, Papageorgiou AP, et al. The microRNA-221/222 cluster balances the antiviral and inflammatory response in viral myocarditis. *Eur Heart J* 2015.
44. Janssen HL, Reesink HW, Lawitz EJ, et al. Treatment of HCV infection by targeting microRNA. *N Engl J Med* 2013;368:1685-94.

Referenties: 1. Samenvatting van de productkenmerken van ZYVOXD®. 2014. 2. Hamm RK, et al. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013;7(2):206-213. 3. Zandheix Tale April 2015.

Verkte productinformatie ZYVOXD (opgesteld december 2014). **De volledige productinformatie (SPC) is op aanvraag verkrijgbaar.** Samenstelling: ZYVOXD 600 mg filmomhulde tabletten bevatten 600 mg linezolid, ZYVOXD 2 mg/ml oplossing voor infusie bevat 2 mg/ml linezolid. De 300 ml infuszakken bevatten 600 mg linezolid. Hulstofen: drie 300 ml bevat 13,3 g glucose en 114 mg natrium. **Indicaties:** Nosocomiale pneumonie, buien het jekelvirus verworven pneumonie indien veroorzaakt door vermoedelijk veroorzaker door gevoelige grampositieve bacteriën. Niet werkzaam tegen infecties veroorzaakt door gramnegatieve pathogenen. Gecompliceerde huid- en weke delen infecties. **Aanbevolen** gediagnosticeerd wanneer uit microbiologisch onderzoek is gebleken dat de infectie wordt veroorzaakt door gevoelige grampositieve bacteriën. Uitsluitend toepassen bij volwassenen met gecompliceerde huid- en weke delen infecties bij een bewezen of vermoede gekijkige infectie met gramnegatieve pathogenen, als er geen andere behandelingsmogelijkheden meer zijn. Onder deze omstandigheden mag gekijkig worden gestart met behandeling gericht tegen gramnegatieve pathogenen. Behandeling uitsluitend starten in een ziekenhuisomgeving en na overleg met een relevante specialist zoals een microbioloog of infectioloog. **Officiële richtlijnen over passend gebruik van antibiotische middelen in overweging nemen.** **Farmacotherapeutische categorie:** Overige bacteriële middelen. ATC-code: J01 AX08. **Dosering:** 600 mg (oral), intraveneus tweemaal per dag gedurende de maximale behandelingsduur. De veiligheid en effectiviteit van linezolid is 28 dagen. De veiligheid en effectiviteit van linezolid is vastgesteld wanneer langer dan 28 dagen toegediend. **Contra-indicaties:** Overgevoeligheid voor linezolid of voor één van de hulstoffen. Niet toepassen bij patiënten die geneesmiddelen gebruiken die de monoamine-oxydase A of B inhiberen (bv. fenelene, socarboxamide, selegiline, moclobemide) of binnen twee weken na gebruik van dergelijke geneesmiddelen. Niet toepassen aan patiënten met de volgende onderliggende klinische aandoeningen of aan patiënten die gekijkig behandeld worden met de volgende geneesmiddelen, tenzij er mogelijkheden zijn voor een nauwkeurige observatie van de patiënt en voor controle van de bloeddruk: patiënten met ongecontroleerde hypertensie, feochromocytoom, carcinoid, thyrotoxicose, bipolaire depressie, schouderactieve stomitis, acute verwardheid, patiënten die één van de volgende geneesmiddelen innemen: serotonine heropnameremmers, tryptofaan antidepressiva, serotonine 5-HT₂ receptor agonisten (triptanen), direct en indirect werkende sympathicomimetische stoffen (inclusief de adrenerge broncho-choleteren, pseudo-efedrine en fenpropionamine), vasopressieve stoffen (bv. adreline en norepinephrine), dopaminerge stoffen (bv. dopamine en dobutamine), peptidische hormonen. **Waarschuwingen en voorzorgen:** Myeloïdopressie: Myeloïdopressie (inclusief anemie, leukopenie en trombocytopenie) werd gerapporteerd bij patiënten die linezolid kregen. In gevallen met bekende of mogelijk stegen de getrofificeerde hematologische parameters tot stopzetting van linezolid opwezen naar de waarden vóór de start van de behandeling. Het risico op deze effecten lijkt gebonden te zijn aan de behandelingsduur. Andere patiënten kunnen een grote risico op bloedarmoede lopen dan de andere patiënten. Trombocytopenie kan vaak optreden bij patiënten met ernstige nierinsufficiëntie, ongeacht of zij dialyse ondergaan. Nauwgezet monitoren van bloedwaarden is daarom aangeraden bij patiënten met bestaande anemie, granulocytopenie of trombocytopenie; patiënten die tegelijkertijd geneesmiddelen krijgen die de hemoglobinespiegels kunnen laten dalen, het aantal bloedcellen kunnen onderdrukken of het aantal bloedplaatjes of hun functie negatief beïnvloeden; patiënten met ernstige nierinsufficiëntie; patiënten die langer dan 10 tot 14 dagen behandeld worden. Linezolid zou alleen aan deze patiënten toegediend moeten worden als de mogelijke baten bestaan hemoglobinespiegels, bloedwaarden en het aantal bloedcellen nauwgezet te monitoren. Als significante myeloïdopressie optreedt, dient de behandeling gestopt te worden totdat de waarden zijn hersteld. **Waarschuwingen en voorzorgen:** Wanneer dit het risico is dienen intensief monitoren van de bloedwaarden en geschikte behandelingsopties geïmplementeerd te worden. Aangeraden wordt om aanvullend de volledige bloedwaarden (inclusief hemoglobinespiegels, bloedplaatjes en totale eiwitconcentratie) te controleren. **Contra-indicaties:** In 'commissies van een' advies wordt uitgegaan van de volgende contra-indicaties: patiënten met ernstige anemie gemiddeld bij patiënten die langer behandeld werden met linezolid dan de maximaal aanbevolen duur van 28 dagen. Deze patiënten verstoort vaak de bloedtransfusie. Gevallen van anemie die een bloedtransfusie vereist, zijn eveneens postmarketing gemeld; daarbij denken zich meer gevallen voor te bestaan die een linezolidbehandeling toegediend kregen gedurende meer dan 28 dagen. Gevallen van sideroblastische anemie zijn postmarketing gemeld. Wanneer het tijdstip van ontstaan bekend was, hadden de meeste patiënten een linezolidbehandeling gekregen meer dan 28 dagen toegediend gekregen. Antibiotico-geassocieerde diarree en colitis: Pseudo-membraneuze colitis is gemeld. Bij patiënten die diarree vertonen na de toediening van een antibioticum middel dient deze diagnose in overweging genomen te worden. In gevallen van vermoede of vastgestelde antibiotico-geassocieerde colitis, kan stopzetting van linezolid nodig zijn. Geschikte behandelingsstrategieën dienen ingezet te worden. Antibiotico-geassocieerde diarree en antibiotico-geassocieerde colitis, inclusief pseudomembraneuze colitis en *Clostridium difficile*-geassocieerde diarree zijn gemeld, wanneer de ernst kan variëren van lichte diarree tot fatale colitis. Deze diagnose dient overwogen te worden bij patiënten die ernstige diarree krijgen tijdens of na het gebruik van linezolid. In dit geval de lokale antibioticumbehandeling, inclusief linezolid, stopzetting en onmiddellijk gepaste therapeutische maatregelen nemen. Geneesmiddelen die de peristaltiek onderdrukken zijn dan tegenwoordig geïndiceerd. Lactatacidose: Lactatacidose is gemeld bij gebruik van linezolid. Patiënten die verschijnselen en symptomen van metabole acidose ontwikkelen tijdens behandeling met linezolid, dienen nauwgezet worden geobserveerd, dienen de waarden van het bloed te worden gecontroleerd, dienen de daadwerkelijke frequentie niet te overschrijden of de potentiële risico's. Mitochondriale disfunctie: Linezolid remt de mitochondriale proteïnesynthese. Bijwerkingen, zoals Lactatacidose, anemie en neuropathie (optisch en perifeer) kunnen optreden als gevolg van deze remming; deze voorvallen zijn frequenter wanneer het geneesmiddel langer dan 28 dagen wordt gebruikt. Serotoninesyndroom: Bij gekijkige toediening van linezolid en serotonerge middelen, waaronder antidepressiva zoals selectieve serotonineopname remmers (SSRI's), werden spontane meldingen van serotoninesyndroom gerapporteerd. Geleijkijdige toediening van linezolid en serotonerge middelen is gecontra-indiceerd, behalve wanneer de gekijkige toediening van linezolid en serotonerge middelen noodzakelijk is. In deze gevallen de patiënt nauwgezet observeren voor verschijnselen en symptomen van serotoninesyndroom. Als deze optreden, de stopzetting van één of beide middelen overwegen; als het serotonerge middel gestopt wordt, kunnen ontweningsverschijnselen optreden. Perifeer neuropathie en optische neuropathie: Perifeer neuropathie, optische neuropathie en optische neuritis, soms overgaand tot visusverlies zijn gemeld. Deze meldingen deden zich voornamelijk voor bij patiënten die langer dan 28 dagen behandeld werden. Alle patiënten dient geobserveerd te worden op symptomen van visusstoornissen te melden. In dergelijke gevallen is een onmiddellijke evaluatie aanbevelen met een eventuele verwijzing naar een oogarts. Bij patiënten die langer dan 28 dagen met ZYVOXD behandeld worden, dient de visuele functie regelmatig gecontroleerd te worden. Als periferie of optische neuropathie voorkomt, dient het voortzetten van het gebruik van ZYVOXD te worden overwogen tegenover de potentiële risico's. Er kan een verhoogd risico op neuropathie zijn wanneer linezolid wordt gebruikt bij patiënten die tegelijkertijd of recent antimicrobiële middelen voor de behandeling van tuberculose innemen, respectievelijk innemen. Convulsies: Convulsies zijn gemeld bij patiënten tijdens behandeling met ZYVOXD. In de meeste gevallen was een voorgeschiedenis van epileptische aanvallen of risicofactoren voor epileptische aanvallen gemeld. Patiënten dient geobserveerd te worden hun arts te informeren indien zij een voorgeschiedenis van epileptische aanvallen hebben. Monoamine-oxydase-inhibitoren: Linezolid is een reversible, niet-selectieve monoamine-oxydase-inhibitor (MAOI). In de doseringen die gebruikt worden in de ambulatoire therapie, heeft het echter geen antidepressief effect. Er zijn erg weinig gegevens uit geneesmiddeleninteractiestudies en over de veiligheid van linezolid indien toegediend aan patiënten met onderliggende aandoeningen of gekijkige toegediende geneesmiddelen waardoor ze kans zouden kunnen lopen op MAOI-inhibitie. Linezolid wordt uitsluitend niet aanbevelen voor gebruik onder deze omstandigheden tenzij nauwkeurige observatie en controle van de ontvangt mogelijk is. Gebruik met tranylwijkig voedsel: Patiënten moet worden opgedragen grote hoeveelheden tranylwijkig voedsel te gebruiken. Superinfectie: De effecten van linezolidbehandeling op de normale flora zijn niet geëvalueerd in klinische studies. Indien superinfectie tijdens de behandeling voorkomt, dienen aangepaste maatregelen genomen te worden. **Oplossing voor infusie:** De oplossing bevat glucose. Hiermee moet rekening worden gehouden bij patiënten met diabetes mellitus of andere omstandigheden geassocieerd met glucose-intolerantie. De oplossing wordt ook ook natrum. Bij patiënten op een gecontroleerd natrumdiët dient er rekening gehouden te worden met de hoeveelheid natrum. **Voor een volledige beschrijving van waarschuwingen en voorzorgen wordt verwezen naar de SPC.** **Bijwerkingen:** Bijwerkingen die met een frequentie $\geq 0.1\%$ of die ernstig geassocieerd zijn in klinische onderzoeken ($n \geq 200$ volwassen patiënten die de aanbevolen dosering innemen, max 28 dagen). De meest gemelde bijwerkingen waren diarree (6.4%), hoofdpijn (6.5%), misselijkheid (6.3%) en braken (4.0%). De meest gemelde bijwerkingen die leiden tot stoppen van de behandeling: hoofdpijn, diarree, misselijkheid en braken. Ongeveer 3% van de patiënten stopte de behandeling op deze reden. Extra bijwerkingen gemeld tijdens postmarketing monitoring zijn opgenomen in de tabel met de frequentie categorie. Niet bekend, omdat de daadwerkelijke frequentie niet vastgesteld kan worden op basis van de beschikbare gegevens. De volgende bijwerkingen werden opgemerkt en gemiddeld met de volgende frequenties: vaak ($\geq 1/100$, $<1/10$): candidiasis, orale candidiasis, vaginale candidiasis, schimmelinfectie, anemie, slijmhoesontsteking, hoofdpijn, smaakverandering (metaldemak), duizeligheid, hypertensie, diarree, misselijkheid, braken, abnormale of algemene buikpijn, obstipatie, dyspnoe, abnormale leverfunctietests, verhoogde AST, ALT of alkalische fosfatase, pruritus, rash, verhoogd BUN, kortes, plaatselijke pijn, verhoogde LDH, creatin kinase, lipase, amyldase of niet-riechtre glucose, verlaagd totaal proteïne, albumine, natrum of calcium, verhoogd verlaagd kalium of bicarbonaat, verhoogde neutrofielen of eosinofielen, verlaagde hemoglobine, hematocriet of aantal rode bloedcellen, verhoogd of verlaagd aantal trombocyten of witte bloedcellen. Soms ($\geq 1/1000$, $<1/100$): vaginitis, leukopenie, neutropenie, trombocytopenie, eosinophilie, hypotensie, convulsies, hypernatremie, polyurie, persisterende, wazig zien, tintelen, ataxie (ataxië), verhoogde creatinine, verhoogde creatinine, urticaria, tromboflebitis, pancreatitis, gastroïtis, abdominale distensie, droge mond, glaucoom, wazig of onduidelijk, stomatitis, tongverkleuring of stomitis, verhoogde totaal bilirubine, urticaria, dermatitis, diaphoresis, nieraan, verhoogde creatinine, polyurie, vulvovaginale stomitis, koude rillingen, vermoeidheid, toegesloten dorst, verhoogd natrum of calcium, verlaagd niet-riechtre glucose, verhoogd of verminderd cholesterool, verhoogd aantal reticulocytos, verlaagd aantal neutrofielen, Zelden ($\geq 1/10000$, $<1/1000$): antilichems geassocieerde colitis, waarden pseudo-membraneuze colitis, paronychie, veranderingen van geachtsweld stoffen, oppervlakkige tandverkleuring. Niet bekend kan van de beschikbare gegevens niet worden bepaald: myeloïdopressie, sideroblastische anemie, anafylaxie, lactatacidose, serotoninesyndroom, perifeer neuropathie, optische neuropathie, optische neuritis, visusverlies, veranderingen in de gezichtsscherpte of in het Meuren zien, bulleuze huidafwijkingen zoals beschreven bij het Stevens-Johnson syndroom en toxische epidermale necrolyse, angio-oedeem, allergie. **Alles over ZYVOXD op Registratieinformatie** (RIVM) ZYVOXD 600 mg filmomhulde tabletten ZYVOXD 2 mg/ml oplossing voor infusie: RIVM 26567. **Vergoeding en prijzen:** ZYVOXD 600 mg filmomhulde tabletten worden volledig vergoed binnen het GVS. ZYVOXD 2 mg/ml oplossing voor infusie wordt niet vergoed binnen het GVS of de lijst add-on. Voor prijzen wordt verwezen naar de ZHdx tax. **Voor medische informatie over dit product** heb u met **8000-MEDINFO (6334638)**. **Nemen voor correspondentie en inlichtingen contact op met de registratiehouder: Pfizer bv, Postbus 37, 2900 AA Capelle a/d IJssel.**

Campylobacter jejuni: van infectie naar Guillain-Barré-syndroom

A.P. Heikema, H.P. Endtz en B.C. Jacobs

Samenvatting

Campylobacter jejuni is wereldwijd een frequente veroorzaker van gastro-enteritis bij de mens. Daarnaast kan een infectie met *C. jejuni* leiden tot verschillende complicaties zoals het Guillain-Barré-syndroom (GBS), een ernstige immuungemedieerde ziekte van de perifere zenuwen. Moleculaire mimicry speelt een cruciale rol bij het ontstaan van GBS. Gesialyleerde lipo-oligosacchariden (LOS) aanwezig op het oppervlak van *C. jejuni*, zijn op moleculair niveau soms identiek aan structuren van gangliosiden op perifere zenuwen, en kunnen dan kruis-reactieve antistoffen bij de mens induceren. Binding van deze antistoffen aan perifere zenuwen kan resulteren in beschadiging van axonen en myeline met spierzwakte en verlamming als gevolg. Het is niet duidelijk waarom het immuunsysteem niet tolerant is voor *C. jejuni*-epitopen die lijken op humane structuren. Specifieke herkenning van de LOS door siaalzuurbindende immunoglobulineachtige lectines (Siglecs) en verhoogde inductie van pro-inflammatoire cytokines via Toll-like receptor 4 lijken bij te dragen aan de productie van antistoffen gericht tegen gangliosiden. Meer kennis van de specifieke immuunrespons tegen *C. jejuni* en het ontstaan van GBS is nodig om deze ernstige postinfectieuze complicatie beter te kunnen behandelen en zo mogelijk te voorkomen.

Abstract

Campylobacter jejuni is a common cause of bacterial gastroenteritis worldwide. Infection with *C. jejuni* may also lead to various complications including Guillain-Barré syndrome (GBS), a severe immune-mediated disease of the peripheral nerves. Molecular mimicry plays a crucial role in the development of GBS. Sialylated lipo-oligosaccharides (LOS) present on the surface of *C. jejuni* can mimic gangliosides on peripheral nerves and induce cross-reactive antibodies in humans. Binding of these antibodies to peripheral nerves can result in damage of axons and myelin with muscle weakness and paralysis as a consequence. It is unclear why the immune system is not tolerant to epitopes of *C. jejuni* that resemble human structures. Specific recognition of LOS by sialic acid-binding immunoglobulin-like lectins (Siglecs) and

enhanced, Toll-like receptor 4-mediated induction of proinflammatory cytokines seems to contribute to the production of anti-ganglioside antibodies. More knowledge of the immune response directed to *C. jejuni* and the pathogenesis of GBS is needed to better treat or prevent this serious post-infectious complication.

Introductie

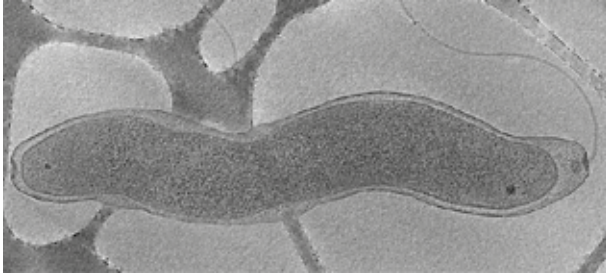
Campylobacter jejuni is wereldwijd een van de belangrijkste veroorzakers van bacteriële diarree bij de mens. Daarnaast leidt een infectie met *C. jejuni* bij ongeveer 1 op de 1000 gevallen tot een levensbedreigende neuropathie, het Guillain-Barré-syndroom (GBS). Dit artikel heeft als doel in beeld te brengen wat de ziektelast is van infecties die veroorzaakt worden door *C. jejuni*. Het geeft een overzicht van de epidemiologie van *C. jejuni*-infecties en beschrijft de pathogenese van GBS. Verder wordt een overzicht gegeven van de huidige kennis van de immuunrespons tegen specifieke epitopen op *C. jejuni* die verantwoordelijk zijn voor het ontstaan van GBS.

Campylobacter jejuni, epidemiologie en ziekte

C. jejuni is een gramnegatieve spiraalvormige bacterie die zich kan voortbewegen door middel van flagellen (figuur 1). Deze bacterie komt veelvuldig voor in de darmen van vogels, waaronder pluimvee, en maakt bij deze dieren in tegenstelling tot mensen deel uit van de normale darmflora. Bij mensen kan *C. jejuni* een darminfectie veroorzaken. Transmissie van *C. jejuni* vindt plaats via de orale route en gecontamineerd kippenvlees wordt gezien als de voornaamste bron van infectie. Een onderzoek in Ierland liet zien dat 56 procent van het kippenvlees dat wordt verkocht voor humane consumptie

H.P. Endtz, arts-microbioloog, afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten, Erasmus MC, Rotterdam, B.C. Jacobs, neuroloog-immunoloog, afdeling Neurologie en Immunologie, Erasmus MC, Rotterdam. Correspondentieadres: A.P. Heikema, wetenschappelijk onderzoeker, afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten, Erasmus MC, Rotterdam, tel.: 010-7037297, e-mail: a.heikema@erasmusmc.nl.

Figuur 1. *Campylobacter jejuni*.



Cryo-elektrontomografische visualisatie van *C. jejuni* op een carbon grit.

is gecontamineerd met *C. jejuni*.¹ Andere besmettingsbronnen zijn: rundvlees, verse melk, oppervlaktewater en huisdieren.

Symptomen van een infectie met *C. jejuni* variëren van milde darmklachten tot heftige, soms bloederige diarree met darmkrampen, buikpijn, koorts en hoofdpijn, en kunnen zeven tot tien dagen aanhouden. In Nederland en andere westerse landen is *C. jejuni* de meest voorkomende bacteriële oorzaak van diarree. In 2012 kwam *C. jejuni*-gerelateerde diarree in Nederland respectievelijk 1,3 en 41 keer vaker voor dan darminfecties veroorzaakt door de darmpathogenen *Salmonella* en shigatoxine producerende *Escherichia coli* O157.² Jaarlijks maken in Nederland ruim 100.000 mensen een acute gastro-enteritis door veroorzaakt door *Campylobacter*-spp.³ Hierbij is *C. jejuni* verantwoordelijk voor meer dan 85 procent van de ziektegevallen. In Europa wordt de incidentie in de bevolking geschat op 1 procent.⁴

De minimale dosis voor het ontstaan van ziekte varieert sterk per pathogeen (tussen 1 bacterie en 1 miljard bacteriën) en is voor *C. jejuni* relatief laag; een besmetting met 800 bacteriën kan al leiden tot ziekte.⁵ Serologisch onderzoek laat zien dat een infectie met *C. jejuni* bij de mens gemiddeld om de 1,5 jaar plaatsvindt.⁶ Ondanks de lage infectieuze dosis verloopt het merendeel van deze infecties zonder klinische symptomen. Bijna iedereen heeft rond het twintigste levensjaar antistoffen tegen *C. jejuni*.⁷ Bij een symptomatische infectie met *C. jejuni* verdwijnen de symptomen meestal spontaan binnen een week. Behandeling met een antibioticum is alleen nodig in geval van ernstige of persisterende klachten en bij immuungecompromitteerde patiënten. De Stichting Werkgroep Antibioticabeleid (SWAB) adviseert in deze gevallen behandeling met azitromycine of erytromycine. Het aantonen van *C. jejuni* in feces gebeurt in veel Nederlandse laboratoria tegenwoordig met een real-time PCR gevolgd door kweek waarbij malditof-massaspectrometrie wordt gebruikt voor de identificatie op speciësniveau. Feceskweek in combinatie met een aantal enzymatische testen of malditof wordt ook gebruikt om *C. jejuni* te identificeren.

Naast diarree kan een infectie met *C. jejuni* leiden tot ernstige complicaties zoals bacteriëmie, reactieve artritis en GBS.⁸ Verschillende *Campylobacter*-soorten waaronder *C. jejuni* worden tevens in verband gebracht met het ontstaan van chronische darmaandoeningen, waaronder het prikkelbaredarmsyndroom en inflammatoire darmziekte (IBD). Verder is *C. jejuni* in ontwikkelingslanden verantwoordelijk voor hoge morbiditeit en mortaliteit, met name bij jonge kinderen.^{9,10}

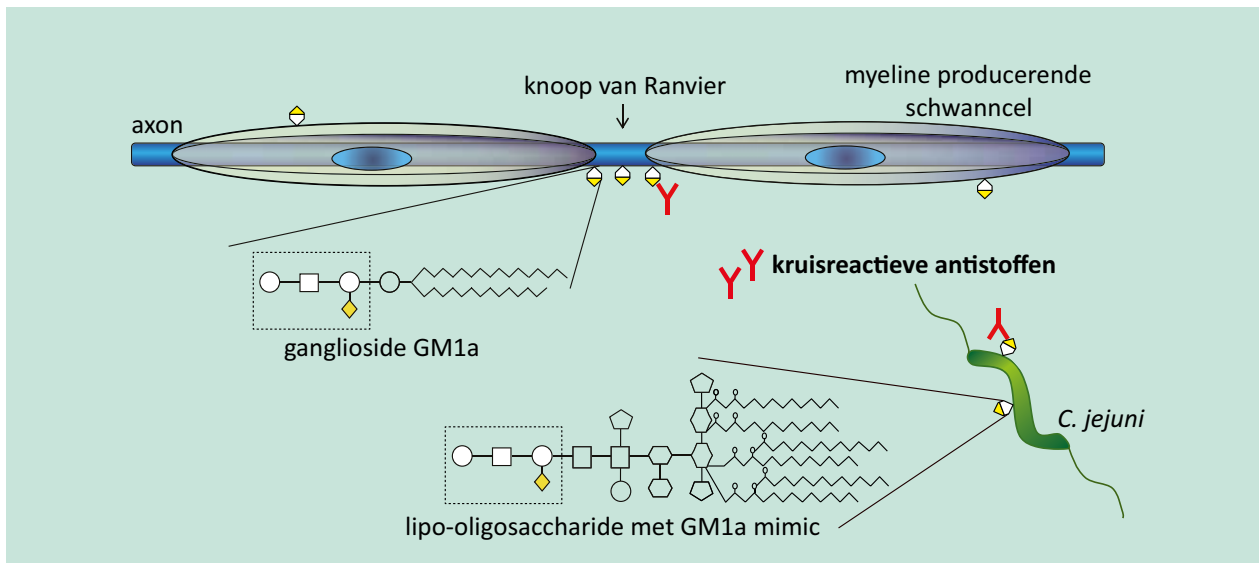
Vanwege de hoge frequentie van infecties wereldwijd en de ernst van de postinfectieuze complicaties wordt *C. jejuni* beschouwd als een hoogrisicopathogeen. Als reactie op de hoge risico's heeft de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) verklaard dat de bestrijding van infecties met deze bacterie een hoge prioriteit heeft voor de volksgezondheidszorg.¹¹ Meer kennis over de pathogeenspecifieke immuniteit is van cruciaal belang omdat het kan leiden tot de identificatie van risicofactoren voor postinfectieuze ziekten en targets voor behandeling van patiënten. Bovendien kan het bijdragen aan de ontwikkeling van een vaccin tegen *C. jejuni*.

Campylobacter jejuni en het Guillain-Barré-syndroom

Met een jaarlijkse incidentie van 1 tot 2 per 100.000 personen is GBS de meest voorkomende vorm van acute neuromusculaire verlamming in gebieden zonder poliomyelitis. Er zijn verscheidene infecties die GBS kunnen veroorzaken maar *C. jejuni* wordt beschouwd als de meest voorkomende oorzaak. GBS ontstaat ongeveer 2 tot 3 weken na een infectie met *C. jejuni*. Meestal zijn de diarreeklachten dan al verdwenen, maar de bacterie kan soms nog worden gekweekt uit feces. Het Erasmus MC heeft een van de grootste collecties aan GBS-gerelateerde *C. jejuni*-stammen. Deze collectie is erg waardevol gebleken bij onderzoek naar het ontstaan van de ziekte en wordt nog steeds uitgebreid. Bij 8 tot 50 procent van de patiënten met GBS wordt een *C. jejuni* uit de feces gekweekt en in 24 tot 76 procent van de gevallen wordt een antistofrespons tegen *C. jejuni* gedetecteerd als teken van een recente infectie.¹² Andere bekende voorafgaande infecties bij GBS zijn epstein-barrvirus, cytomegalovirus, *Haemophilus influenzae* en *Mycoplasma pneumoniae*.¹³ Uit recent onderzoek is gebleken dat hepatitis E-virus ook geassocieerd is met GBS.¹⁴

Het belangrijkste klinische symptoom van GBS is een snelle progressieve verlamming van de spieren van de ledematen die binnen vier weken een maximum bereikt. Tijdens deze progressieve fase kan er ook een verlamming optreden van de aangezichtsspieren, slikspieren en ademhalingsspieren. Ongeveer 20 procent van de patiënten moet worden beademd op een intensive care. Verder kunnen heftige pijn en gevoelsstoornissen optreden en autonome disfunctie waaraan de patiënten kunnen overlijden. Na de progressieve fase volgt een plateaufase

Figuur 2. Moleculaire mimicry en Guillain-Barré-syndroom.



Een structurele overeenkomst tussen microbiële antigenen en gastheermoleculen die leidt tot een kruisreactieve immunerespons (= moleculaire mimicry) speelt een belangrijke rol bij het ontstaan van het Guillain-Barré-syndroom. De overeenkomst (aangegeven met de gestippelde rechthoeken) tussen het terminale gedeelte van de lipo-oligosacchariden van *C. jejuni* en gangliosiden op axonen en myeline van zenuwcellen kan leiden tot de productie van kruisreactieve antistoffen. Hoge concentraties gangliosiden komen voor tussen de schwanncellen bij de knopen van Ranvier, een structuur die belangrijk is voor de snelle geleiding van impulsen over perifere zenuwen.

die enkele dagen tot maanden kan duren, tot het begin van het eerste herstel. De standaardbehandeling voor GBS is de intraveneuze toediening van immunoglobulinen, of plasmaferese. De mortaliteit van GBS in Nederland is 2,8 procent, in de Verenigde Staten 2,6 procent en in Bangladesh 14 procent.¹⁵ In ontwikkelingslanden is de sterfte hoger, mogelijk door het ontbreken van adequate behandeling en optimale zorg. Het herstel kan maanden tot jaren duren en is afhankelijk van de ernst van de opgelopen zenuwbeschadiging in de acute fase. Na 6 maanden kan ongeveer 20 procent van de patiënten nog niet zelfstandig lopen. Ernstige vermoeidheid komt voor in 60 tot 80 procent van de gevallen, is onafhankelijk van de ernst van de ziekte en zorgt voor een belangrijke beperking.¹⁶

Bij patiënten met GBS kunnen zowel de axonen als het myeline worden beschadigd. Er worden diverse subtypen van GBS beschreven op basis van de bevindingen in zenuwgeleidingsstudies en bij obductie. Bij de 'inflammatory demyelinating polyneuropathy' (AIDP) is er vooral demyelinisatie; bij de 'acute motor axonal neuropathy' (AMAN) en 'acute motor-sensory neuropathy' (AMSAN) vooral axonale degeneratie. Voor de axonale subtypen van GBS is aangetoond dat antistoffen tegen diverse gangliosiden waaronder GM1 en GD1a direct verantwoordelijk zijn voor de zenuwbeschadiging.¹⁷ Antistoffen tegen gangliosiden worden echter ook vaak gevonden bij patiënten met AIDP. Het Miller-Fisher-syndroom (MFS) is een variant van GBS die wordt gekarakteriseerd door verlies van coördinatie en peesreflexen, en verlamming van de spieren die zorgen

voor de oogbewegingen. MFS is sterk geassocieerd met antistoffen tegen het ganglioside GQ1b dat met name voorkomt op de perifere zenuwen die betrokken zijn bij de oogbewegingen. GBS bestaat dus uit een spectrum van verschillende subtypen waarvan er een aantal sterk geassocieerd zijn met bepaalde typen anti-ganglioside antistoffen.

Immuunactivatie leidend tot Guillain-Barré-syndroom

GBS is een typische postinfectieuze aandoening waarvan de meeste patiënten enkele weken voor het ontstaan van de eerste neurologische uitval een infectie beschrijven. Vaak zijn de klachten van de infectie al over voordat de neurologische uitval begint, wat suggereert dat er geen directe beschadiging van de zenuwen optreedt ten gevolge van de infectie. De zenuwbeschadiging lijkt eerder het gevolg van een immunoreactie die door de voorafgaande infectie wordt geïnduceerd. In het geval van een *C. jejuni*-infectie is er een belangrijke rol weggelegd voor zogeheten moleculaire mimicry: een structurele overeenkomst tussen microbiële antigenen en gastheermoleculen die leidt tot een kruisreactieve immunerespons. Een dergelijke structurele overeenkomst is aangetoond voor lipo-oligosacchariden (LOS) van *C. jejuni*-stammen die werden geïsoleerd bij patiënten met GBS, en gangliosiden in het membraan van humane perifere zenuwen. Gangliosiden zijn een familie van glycolipiden die bestaan uit ceramide (het lipide-deel) dat verankerd is in het celmembraan, en een suikerdeel dat sialzuur bevat en extracellulair wordt geëxposeerd. Sialzuur kan ook aanwezig zijn in de suikers van de LOS van *C. jejuni*. GBS kan zich ontwikkelen als er tijdens

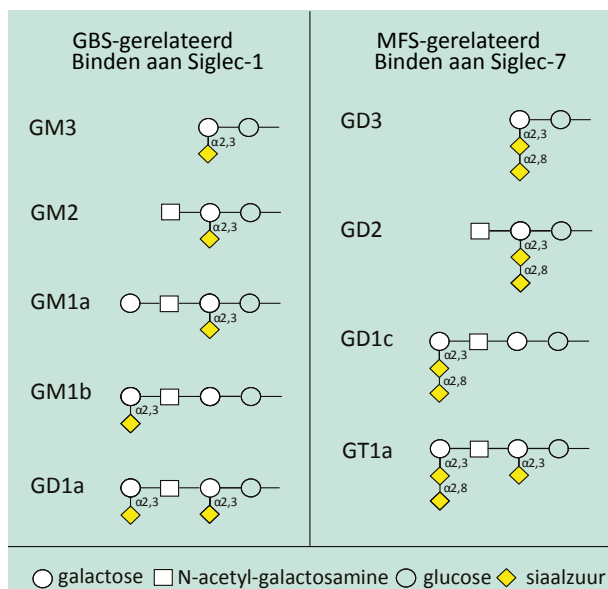
een infectie met *C. jejuni* antistoffen worden opgewekt tegen de gesialyleerde suikers in de LOS die vervolgens kruisreageren met de suikers van gangliosiden in het zenuwmembraan (figuur 2). In de acute fase van GBS worden bij patiënten vaak antistoffen gevonden tegen deze gangliosiden.^{18,19} Deze antistoffen veroorzaken, na binding aan de zenuw, lokale activatie van het complementsysteem die onder andere leidt tot de vorming van het 'membrane attack complex'. Deze complementactivatie leidt vervolgens tot beschadiging en functionele uitval van de zenuw.²⁰ Op dit moment is nog niet precies bekend hoe het immuunsysteem wordt geactiveerd door gesialyleerde LOS van *C. jejuni*. Contact met het immuunsysteem is een initiële stap voor het ontstaan van een immuungemedieerde ziekte zoals GBS. Het darmepitheel dient als barrière voor intestinale micro-organismen. *C. jejuni* is echter een invasieve bacterie en kan het darmepitheel passeren. Onderzoek aan het Erasmus MC heeft aangetoond dat *C. jejuni*-stammen met gesialyleerde LOS zelfs meer invasief zijn dan stammen zonder sialzuur.²¹ Naast een barrièrefunctie draagt het darmepitheel bij aan de immunrespons. Infectie van darmepitheelcellen met *C. jejuni* leidt bijvoorbeeld tot expressie van de chemokines CXCL8 (IL-8), CXCL10 en CCL20. Chemokines kunnen immuuncellen zoals dendritische cellen (DC's), neutrofielen en macrofagen aantrekken. CXCL10 fungeert als een chemoattractant voor B- en T-cellen en infectie van darmepitheelcellen met gesialyleerde *C. jejuni*-stammen

resulteert in een hogere CXCL10-respons vergeleken met niet-gesialyleerde stammen.²² Naast chemokines worden ook cytokines geproduceerd na in-vitro-infectie van darmepitheelcellen met *C. jejuni*.^{23,24} Het is echter niet bekend of gesialyleerde stammen een hogere expressie van specifieke cytokines veroorzaken dan stammen zonder sialzuur.

Nadat *C. jejuni* het darmepitheel heeft gepasseerd, komt het in contact met het darmgeassocieerde lymfoïde weefsel, het immuunsysteem van het spijsverteringsstelsel. Herkenning van bacteriële epitopen is een belangrijke eerste stap die leidt tot antilichaamproductie. Immuuncellen zoals macrofagen en dendritische cellen zijn aanwezig in het lymfoïde weefsel van de darm en worden direct geactiveerd door lichaamsvreemde structuren zoals de LOS van *C. jejuni*. De sialzuurbindende immunoglobulineachtige lectines (Siglecs) zijn gespecialiseerd in herkenning van gesialyleerde epitopen.²⁵ Siglec-1 en Siglec-7 binden aan *C. jejuni*-stammen met gesialyleerde LOS en onderscheiden twee vormen van gesialyleerde LOS en GBS. Monogesialyleerde, GBS-gerelateerde stammen binden specifiek aan Siglec-1 terwijl digesialyleerde, MFS-gerelateerde stammen aan Siglec-7 binden (figuur 3).^{26,27} Siglec-1-gemedieerde binding van *C. jejuni* aan macrofagen leidt in vitro tot verhoogde fagocytose en productie van IL-6.²⁸ In vivo draagt de binding van *C. jejuni* aan Siglec-1 bij aan de inductie van cytokine- en type I-interferonresponsen.²⁹ Het is bekend dat binding van eiwit aan Siglec-1 resulteert in inductie van IgM- en IgG-antistoffen.³⁰ Het is dus mogelijk dat binding van gesialyleerde LOS aan Siglec-1 ook leidt tot B-celactivatie en antistofproductie en mogelijk dus tot GBS. Siglec-7 komt voor op meerdere immuuncellen waaronder monocytten, NK-cellen en DC's. Geactiveerde DC's migreren naar de lymfeklieren waar de adaptieve immunrespons wordt geactiveerd. De huidige gedachte is dat binding van *C. jejuni* aan Siglec-7 op migrerende DC's bijdraagt aan de activatie van deze immunrespons. Toll-like receptor 4 (TLR4), onder andere aanwezig op DC's, speelt tevens een belangrijke rol bij de herkenning van LOS en immunactivatie. TLR4 wordt geactiveerd door interactie met het lipid A-gedeelte (het endotoxine) van *C. jejuni*-LOS. Sialzuurgroepen op het LOS kunnen de intensiteit van activatie echter beïnvloeden. Incubatie van DC's met gesialyleerde LOS leidt bijvoorbeeld tot hogere, TLR4-afhankelijke secretie van cytokines (IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p40 en TNF- α) en maturatie van DC's dan incubatie met niet-gesialyleerde LOS.³¹ Hogere cytokineniveaus in DC-supernatanten leiden ook tot meer B-celproliferatie,³¹ een proces dat voorafgaat aan antistofproductie.

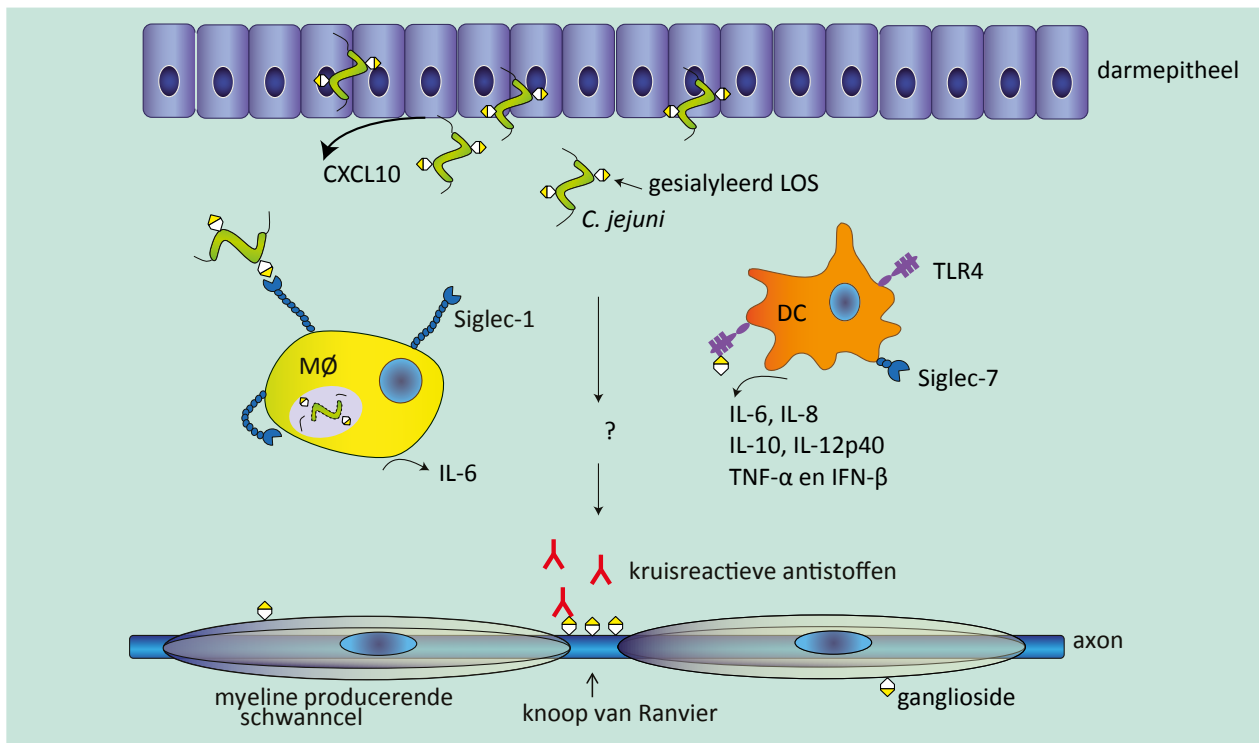
Herkenning van gesialyleerde LOS door Siglecs en TLR4 en de inductie van cytokines lijken twee belangrijke stappen te zijn die zouden kunnen leiden tot B-celactivatie en productie van kruisreactieve anti-ganglioside

Figuur 3. Gangliosidestructuren die binden aan Siglec-1 en Siglec-7.



Schematische representatie van humane gangliosidestructuren die geproduceerd kunnen worden door *C. jejuni* in de lipo-oligosacchariden. Monogesialyleerde (één sialzuur aan galactose), GBS-gerelateerde gangliosideachtige epitopen van *C. jejuni* binden aan Siglec-1 en digesialyleerde (twee sialzuren aan galactose) epitopen aan Siglec-7.

Figuur 4. Model voor de natuurlijke immunrespons tegen gesialyleerde lipooligosacchariden van *C. jejuni* die mogelijk leidt tot het Guillain-Barré-syndroom.



C. jejuni-stammen met gesialyleerde lipo-oligosacchariden (LOS) zijn meer invasief en veroorzaken een sterkere CXCL10-respons vergeleken met stammen die niet gesialyleerd zijn. Binding van *C. jejuni* aan sialzuurbindende immunoglobulineachtige lectine-1 (Siglec-1) op macrofagen leidt tot fagocytose en productie van IL-6. Herkenning van gesialyleerde LOS door TLR4 op dendritische cellen geeft verhoogde, sialzuurspecifieke cytokine- en interferonresponsen. Gastheerafhankelijke overactivatie van het immuunsysteem via Siglec-1 en TLR4 zou bij kunnen dragen aan de productie van kruisreactieve antigangliosideantistoffen. Het is niet bekend hoe gesialyleerde LOS worden gepresenteerd aan B-cellen.

MØ = macrofaag; DC = dendritische cel.

antistoffen. Toch is de incidentie van GBS laag terwijl gesialyleerde stammen vaak worden geïsoleerd uit feces van patiënten met ongecompliceerde diarree.

Het is daarom waarschijnlijk dat ook gastheerspecifieke factoren bijdragen aan het ontwikkelen van GBS. Uit een recent onderzoek is gebleken dat DC's gekweekt uit voormalige GBS-patiënten, na stimulatie met *C. jejuni*-LOS, een verhoogde expressie van maturatiemarkers en type I-interferon vertoonden vergeleken met DC's uit gezonde controlepersonen.³² Dit suggereert dat bepaalde individuen gevoeliger zijn voor het ontwikkelen van GBS na een *C. jejuni*-infectie dan andere. Dit zou kunnen verklaren waarom patiënten die ooit GBS hebben doorgemaakt een kans van ongeveer 5 procent hebben om GBS nog een keer te krijgen, terwijl het risico voor de andere personen slechts 0,1 procent is. Mogelijk spelen polymorfismen in immuunresponsgenen hierbij een rol, maar de aantallen in de studies die dit tot nu toe hebben uitgezocht zijn te klein om duidelijke conclusies te kunnen trekken.

Naast gesialyleerde LOS zou het oppervlaktegeëxposeerde polysaccharide kapsel van *C. jejuni* bij kunnen dragen aan het ontstaan van de ziekte. Al eerder werd een associatie

aangetoond tussen de kapselserotypes HS:19 en HS:41, en GBS. Deze associatie werd echter niet gevonden in onze Nederlandse stammencollectie. Recent epidemiologisch onderzoek, waarbij gebruik is gemaakt van een bijna twee keer zo grote collectie, laat een associatie zien tussen de kapseltypes HS:1/44 en HS:4 en GBS.³³ De geografische herkomst van de stammen verklaart verschillen in het voorkomen van specifieke kapseltypes. Het kapsel van *C. jejuni* vormt een beschermende laag rond de bacterie. Het staat in direct contact met de omgeving, beschermt de bacterie tegen doding door complement, en het is betrokken bij immunomodulatie.³⁴ Additioneel onderzoek is nodig om te bepalen of er een causaal verband bestaat tussen GBS-geassocieerde kapseltypes en de ontwikkeling van GBS.

Conclusie

Een infectie met de darmbacterie *C. jejuni* kan leiden tot GBS, een acute en ernstige aandoening van de perifere zenuwen. De huidige kennis van de pathogenese van GBS kan als volgt worden samengevat (figuur 4). Een kruisreactieve antistofrespons tegen gesialyleerde LOS van *C. jejuni* en gangliosiden op perifere zenuwen van de mens leidt tot

beschadiging van de zenuwen met ernstige spierzwakte tot gevolg. Invasie van het darmepitheel, een verhoogde CXCL10-respons, binding van gesialyleerde LOS van *C. jejuni* aan Siglecs op immuuncellen, en activatie van het immuunsysteem via TLR4 kunnen bijdragen aan de inductie van de kruisreactieve antistofrespons. Personen die immunologisch sterker reageren op LOS van *C. jejuni* lijken gevoeliger te zijn voor het ontwikkelen van GBS. Een beter inzicht is nodig in de gastheerfactoren die een rol spelen bij het ontstaan van de ziekte. Nieuwe kennis over de pathogenese van GBS en de immuunrespons die leidt tot GBS kan in de toekomst leiden tot betere behandelingsmethoden en preventieve maatregelen.

Dankwoord

Met dank aan Roman Koning, LUMC, Leiden, voor de cryo-elektrontomografische visualisatie van *C. jejuni* en aan Ruth Huizinga, Erasmus MC, Rotterdam, voor het kritisch lezen van dit manuscript.

Referenties

- Madden RH, Moran L, Scates P, McBride J, Kelly C. Prevalence of Campylobacter and Salmonella in raw chicken on retail sale in the republic of Ireland. *J Food Prot* 2011;74:1912-6.
- Bouwknegt M, Mangan MJ, Friesema IHM, van Pelt W, Havelaar AH. Disease burden of food-related pathogens in the Netherlands, 2012. RIVM Letter report 2014-0069, 2014.
- Havelaar AH, Ivarsson S, Lofdahl M, Nauta MJ. Estimating the true incidence of campylobacteriosis and salmonellosis in the European Union, 2009. *Epidemiol Infect* 2013;141:293-302.
- O'Brien SJ. Foodborne zoonoses. *BMJ* 2005;331(7527):1217-8.
- Black RE, Levine MM, Clements ML, Hughes TP, Blaser MJ. Experimental Campylobacter jejuni infection in humans. *J Infect Dis* 1988;157:472-9.
- Teunis PF, Falkenhorst G, Ang CW, Strid MA, de Valk H, Sadkowska-Todys M, et al. Campylobacter seroconversion rates in selected countries in the European Union. *Epidemiol Infect* 2013;141:2051-7.
- Ang CW, Teunis PF, Herbrink P, Keijsers J, van Duynhoven YH, Visser CE, et al. Seroepidemiological studies indicate frequent and repeated exposure to Campylobacter spp. during childhood. *Epidemiol Infect* 2011;139:1361-8.
- Allos BM. Campylobacter jejuni Infections: update on emerging issues and trends. *Clin Infect Dis* 2001;32:1201-6.
- Crushell E, Harty S, Sharif F, Bourke B. Enteric Campylobacter: purging its secrets? *Pediatric research* 2004;55:3-12.
- O'Reilly CE, Jaron P, Ochieng B, Nyaguara A, Tate JE, Parsons MB, et al. Risk factors for death among children less than 5 years old hospitalized with diarrhea in rural western Kenya, 2005-2007: a cohort study. *PLoS Med* 2012;9:e1001256.
- WHO. The global view of Campylobacteriosis. Report of expert consultations, 2012: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/80751/1/9789241564601_eng.pdf.
- Nyati KK, Nyati R. Role of Campylobacter jejuni infection in the pathogenesis of Guillain-Barré syndrome: an update. *Biomed Res Int* 2013;2013:852195.
- Jacobs BC, Rothbarth PH, van der Meché FGA, Herbrink P, Schmitz PIM, De Klerk MA, et al. The spectrum of antecedent infections in Guillain-Barré syndrome: a case-control study. *Neurology* 1998;51:1110-5.
- Van den Berg B, van der Eijk AA, Pas SD, Hunter JG, Madden RG, Tio-Gillen AP, et al. Guillain-Barré syndrome associated with preceding hepatitis E virus infection. *Neurology* 2014;82:491-7.
- Islam Z, Jacobs BC, van Belkum A, Mohammad QD, Islam MB, Herbrink P, et al. Axonal variant of Guillain-Barré syndrome associated with Campylobacter infection in Bangladesh. *Neurology* 2010;74:581-7.
- Garssen MP, van Koningsveld R, van Doorn PA. Residual fatigue is independent of antecedent events and disease severity in Guillain-Barré syndrome. *J Neurol* 2006;253:1143-6.
- Yuki N, Susuki K, Koga M, Nishimoto Y, Odaka M, Hirata K, et al. Carbohydrate mimicry between human ganglioside GM1 and Campylobacter jejuni lipooligosaccharide causes Guillain-Barré syndrome. *PNAS* 2004;101:11404-9.
- Jacobs BC, Hazenberg MP, van Doorn PA, Endtz HP, van der Meché FGA. Cross-reactive antibodies against gangliosides and Campylobacter jejuni lipopolysaccharides in patients with Guillain-Barré or Miller Fisher syndrome. *J Infect Dis* 1997;175:729-33.
- Yuki N, Taki T, Handa S. Antibody to GalNAc-GD1a and GalNAc-GM1b in Guillain-Barré syndrome subsequent to Campylobacter jejuni enteritis. *J Neuroimmunol* 1996;71:155-61.
- Susuki K, Yuki N, Schafer DP, Hirata K, Zhang G, Funakoshi K, et al. Dysfunction of nodes of Ranvier: a mechanism for anti-ganglioside antibody-mediated neuropathies. *Exp Neurol* 2012;233:534-42.
- Louwen R, Heikema A, van Belkum A, Ott A, Gilbert M, Ang W, et al. The sialylated lipooligosaccharide outer core in Campylobacter jejuni is an important determinant for epithelial cell invasion. *Infect Immun* 2008;76:4431-8.
- Louwen R, Nieuwenhuis EE, van Marrewijk L, Horst-Kreft D, de Ruiter L, Heikema AP, et al. Campylobacter jejuni translocation across intestinal epithelial cells is facilitated by ganglioside-like lipooligosaccharide structures. *Infect Immun* 2012;80:3307-18.
- Bahrami B, Macfarlane S, Macfarlane GT. Induction of cytokine formation by human intestinal bacteria in gut epithelial cell lines. *J Appl Microbiol* 2011;110:353-63.
- Murphy H, Cogan T, Hughes R, Humphrey T. Porcine intestinal epithelial responses to Campylobacter infection. *Compe Immunol Microbiol Infect Dis* 2011;34:489-95.
- Crocker PR, Paulson JC, Varki A. Siglecs and their roles in the immune system. *Nature Rev* 2007;7:255-66.
- Heikema AP, Bergman MP, Richards H, Crocker PR, Gilbert M, Samsom JN, et al. Characterization of the specific interaction between sialoadhesin and sialylated Campylobacter jejuni lipooligosaccharides. *Infect Immun* 2010;78:3237-46.
- Heikema AP, Jacobs BC, Horst-Kreft D, Huizinga R, Kuijff ML, Endtz HP, et al. Siglec-7 specifically recognizes Campylobacter jejuni strains associated with oculomotor weakness in Guillain-Barré syndrome and Miller Fisher syndrome. *Clin Microbiol Infect* 2013;19:E106-12.
- Heikema AP, Koning RI, Duarte dos Santos Rico S, Rempel H, Jacobs BC, Endtz HP, et al. Enhanced, sialoadhesin-dependent uptake of Guillain-Barré syndrome-associated Campylobacter jejuni strains by human macrophages. *Infect Immun* 2013;81:2095-103.
- Klaas M, Oetke C, Lewis LE, Erwig LP, Heikema AP, Easton A, et al. Sialoadhesin promotes rapid proinflammatory and type I IFN responses to a sialylated pathogen, Campylobacter jejuni. *J Immunol* 2012;189:2414-22.
- Delputte PL, Van Gorp H, Favoreel HW, Hoebek I, Delrue I, Dewerchin H, et al. Porcine sialoadhesin (CD169/Siglec-1) is an endocytic receptor that allows targeted delivery of toxins and antigens to macrophages. *PLoS ONE* 2011;6:e16827.
- Kuijff ML, Samsom JN, van Rijs W, Bax M, Huizinga R, Heikema AP, et al. TLR4-mediated sensing of Campylobacter jejuni by dendritic cells is determined by sialylation. *J Immunol* 2010;185:748-55.
- Huizinga R, van den Berg B, van Rijs W, Tio-Gillen AP, Fokkink WJ, Bakker-Jonges LE, et al. Innate immunity to Campylobacter jejuni in Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 2015;78:343-54.
- Heikema AP, Islam Z, Horst-Kreft D, Huizinga R, Jacobs BC, Wagenaar JA, et al. Campylobacter jejuni capsular genotypes are related to Guillain-Barré syndrome. *Clin Microbiol Infect* 2015;21:852-9.
- Maue AC, Mohawk KL, Giles DK, Poly F, Ewing CP, Jiao Y, et al. The polysaccharide capsule of Campylobacter jejuni modulates the host immune response. *Infect Immun* 2013;81:665-72.

Het influenzaseizoen 2014/2015 in Nederland: een zeer langdurige epidemie

J.C. de Jong, G.A. Donker, A. Meijer, W. van der Hoek, M.M.A. de Lange, G.F. Rimmelzwaan, M.P.G. Koopmans

Samenvatting

De influenza-epidemie van het seizoen 2014/2015 was uitzonderlijk lang, 21 weken, langer nog dan die van 2012/2013, die 18 weken telde. In week 8 was de incidentie maximaal, met 16,2 influenza-achtig ziektebeeld (IAZ) per 10.000 inwoners. Uit de gegevens van het NIVEL/RIVM-systeem gebaseerd op huisartsen blijkt dat type A dominant was, waarbij de A(H3N2)-virussen overheersten. Bij A(H1N1)pdm09- en influenza B-virussen van de fylogenetische lijn B/Yamagata/16/88 werd ten opzichte van seizoen 2013/2014 geen significante antigene drift geconstateerd. Bij A(H3N2)-virussen is sinds het seizoen 2011/2012 wel antigene drift opgetreden. De vaccinstammen kwamen antigenetisch goed overeen met de epidemische A(H1N1)pdm09-virusisolaten, maar evenals in het vorige seizoen slecht met de A(H3N2)- en niet optimaal met de B-virussen. Voor het seizoen 2015/2016 op het noordelijk halfrond heeft de WHO de volgende vaccinsamenstelling aanbevolen:

- voor A(H1N1)pdm09: weer een A/California/7/2009-achtig virus;
- voor A(H3N2): een A/Switzerland/9715293/2013-achtig virus;
- voor B: een B/Phuket/3073/2013-achtig virus, van de lijn B/Yamagata/16/88.

Van de 874 geteste virussen was er één, een A(H1N1)pdm09-virusisolaat, dat een sterk verminderde gevoeligheid voor oseltamivir vertoonde; een deel van de virussen in dit isolaat bevatte de H275Y-aminozuursubstitutie in het neuraminidase.

Abstract

There was a prolonged influenza epidemic in the 2014/2015 season in the Netherlands. As frequently, type A was dominant, A(H3N2) being the most prevalent subtype. Compared with the 2013/2014 season, no antigenic drift was observed in subtypes A(H1N1)pdm09 and (in contrast to findings of the WHO) the phylogenetic lineage B/Yamagata/16/88. With subtype A(H3N2), we noted moderate antigenic drift. The influenza vaccine used for the 2014/2015 season matched antigenically well with the A(H1N1)pdm09 virus isolates from the Netherlands

but poorly with the A(H3N2) and suboptimally with the B/Yamagata/16/88 lineage virus isolates.

Influenzavirussen

Influenzavirussen worden onderverdeeld in de typen A, B, C en D. Binnen type A worden subtypen onderscheiden, waarvan thans A(H3N2) en A(H1N1)pdm09 bij de mens vóórkomen.¹ Binnen type B circuleren twee fylogenetische lijnen: de B/Victoria/2/87-lijn en de B/Yamagata/16/88-lijn, die ook antigenetisch verschillen.² Alle vier genoemde soorten influenzavirus ondergaan regelmatig kleine antigenen veranderingen (antigene drift) die kunnen worden gekwantificeerd met de hemagglutinatieremmingstest.^{1,3} Het huidige influenzavaccin dat in Nederland gebruikt wordt, bevat geïnactiveerd virus van beide A-subtypen en één van de twee B-lijnen en wordt jaarlijks door de WHO aangepast aan de eventuele antigenen veranderingen.

Influenzasurveillance

In Nederland wordt de influenzasurveillance uitgevoerd door NIVEL, het Nederlands Instituut voor Onderzoek van de Gezondheidszorg te Utrecht, en het Nationaal Influenza Centrum (NIC), een samenwerkingsverband van het Erasmus Medisch Centrum (NIC-Erasmus MC) te Rotterdam en het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (NIC-RIVM) te Bilthoven.

De 40 huisartspeilstations die participeren in NIVEL Zorgregistraties eerste lijn, registreren wekelijks het aantal IAZ-patiënten dat de huisarts consulteert, waaruit NIVEL de landelijke IAZ-incidentie berekent.⁴ Tevens worden wekelijks steekproefsgewijs genomen neus- en keelmonsters die afkomstig zijn van eerdergenoemde patiënten met IAZ of een andere acute respiratoire infectie (ARI) door het NIC-RIVM onderzocht op influenzavirus,

G.F. Rimmelzwaan, M.P.G. Koopmans, J.C. de Jong, Erasmus MC, Rotterdam, G.A. Donker, Peilstations, NIVEL Zorgregistraties eerste lijn, Utrecht, A. Meijer, W. van der Hoek, M.M.A. de Lange, RIVM, Centrum Infectieziektebestrijding. Correspondentieadres: J.C. de Jong, Erasmus MC, Faculteit Geneeskunde, afdeling Viroscie, Nationaal Influenza Centrum, Postbus 2040, 3000 CA Rotterdam, e-mail: jong7662@planet.nl.

RS-virus, rinovirus en enterovirus.⁵ Daarnaast ontvangt het NIC-Erasmus MC influenzavirusisolaten en influenzaviruspositieve klinische monsters van diagnostische ziekenhuislaboratoria. Bij voldoende lage Ct-waarde wordt getracht hieruit influenzavirus te kweken.

Een deel van de zo verkregen virusisolaten wordt in het NIC-Erasmus MC nader geanalyseerd met de hemagglutinatieremmingstest.³ Of er antigene drift is opgetreden, blijkt uit hemagglutinatieremmingstesten met uitsluitend celgekweekte virusisolaten uit het afgelopen seizoen en voorgaande seizoenen en antisera bereid met deze virusisolaten. Liggen de titers tegen virusisolaten uit een later seizoen een factor vier of meer lager dan de bijbehorende homologe titer, dan heeft er bij afspraak in de tussentijd antigene drift plaatsgevonden. Antisera bereid met influenzaviruspreparaten van de WHO zijn hiervoor niet bruikbaar. De meeste van deze virussen, zeker de stammen voor de vaccinproductie, worden namelijk gekweekt in bebroede kippenieren hetgeen kan resulteren in antigenetische veranderingen.

Voor de vraag naar de vaccinmatch wordt juist antiserum gebruikt dat bereid is met het vaccinvirus. Liggen de titers van dit antiserum tegen virusisolaten uit het betreffende seizoen een factor vier of meer lager dan de homologe titer, dan is er sprake van een mismatch. Daarnaast worden de virussen uit de peilstations en steekproefsgewijs ook de virussen uit de diagnostische laboratoria onderzocht op gevoeligheid voor antivirale middelen in respectievelijk NIC-RIVM en NIC-Erasmus MC.^{5,6} Ziekenhuizen verzenden uit zichzelf virussen die resistent zijn tegen neuraminidaseremmers naar het NIC-RIVM voor nader onderzoek.

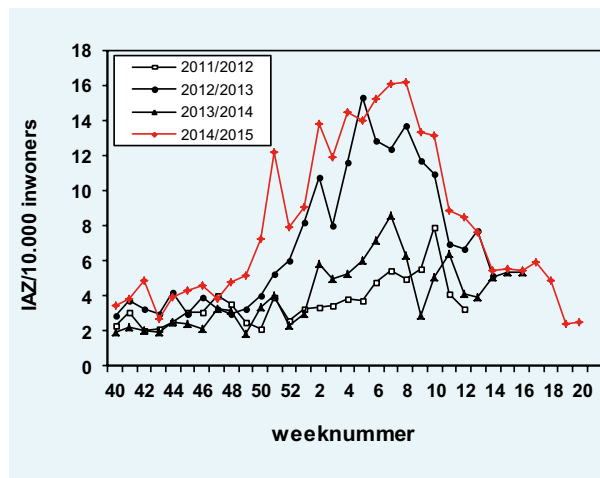
Wekelijks worden de resultaten doorgegeven aan het European Centre for Disease Control and Prevention (ECDC)-kantoor in Stockholm en de WHO in Kopenhagen (Europees regionaal) en Genève (mondiaal). Tevens wordt een selectie van de virusisolaten naar het WHO Collaborating Centre in Londen verzonden. Jaarlijks brengt de WHO in februari en september in Genève advies uit over de vaccinsamenstelling voor het daaropvolgende influenza-seizoen op het noordelijk respectievelijk zuidelijk halfrond.⁷

Resultaten en discussie

De influenza-epidemie van het seizoen 2014/2015

De afgelopen influenza-epidemie was zeer langdurig. De IAZ-incidentie overschreed in week 49 van 2014 de epidemische drempel van 5,1 patiënten per 10.000 inwoners en duurde tot en met week 17 van 2015 (figuur 1). De piekwaarde van 16,2 IAZ per 10.000 inwoners werd bereikt in week 8 van 2015. De duur van de epidemie was met 21 weken uitzonderlijk – de gemiddelde lengte van een influenza-epidemie is 8 weken – en overtrof zelfs die van 2012/2013 die 18 weken telde. De antigene drift bij het A(H3N2)-virus speelde waarschijnlijk een rol en misschien was het ongewoon droge weer van de afgelopen lente ook

Figuur 1. Klinische influenza-activiteit in Nederland in de seizoenen 2011/2012 tot en met 2014/2015 (rode lijn) weergegeven als het wekelijkse aantal patiënten met een influenza-achtig ziektebeeld (IAZ) per 10.000 inwoners, aangemeld bij de peilstations.



Bron: NIVEL Zorgregistraties eerste lijn.

een factor (weeronline.nl van 17 september 2015). Zoals in de rapportage over het seizoen 2012/2013 is uiteengezet, bevordert droge lucht de verspreiding van influenzavirus.⁸

Overzicht van de onderzochte influenzavirussen

In het seizoen 2014/2015 werden door het NIC 3085 influenzavirussen onderzocht (figuren 2 en 3, tabellen 1 en 2). Evenals in vorige seizoenen konden de meeste hiervan niet worden gekweekt.³ Bij de virussen uit de peilstations was type A wederom dominant, waarbij de A(H3N2)-virussen overheersten (tabel 1). Bij type B waren vrijwel alle virussen van de B/Yamagata/16/88-lijn. De verhoudingen tussen de vier virussoorten kwamen grotendeels overeen met die in de peilstations van de landen van de Europese Unie (EU).⁹ Uitzondering: in Nederland prevaleerde binnen type A subtype A(H3N2) meer dan in de andere landen van de EU. Bij de virussen uit diagnostische ziekenhuislaboratoria domineerde zoals gewoonlijk type A nog meer, met A(H3N2) weer als meest voorkomend subtype (tabel 2). Bij type B werden ook hier vooral virussen van de B/Yamagata/16/88-lijn gevonden.

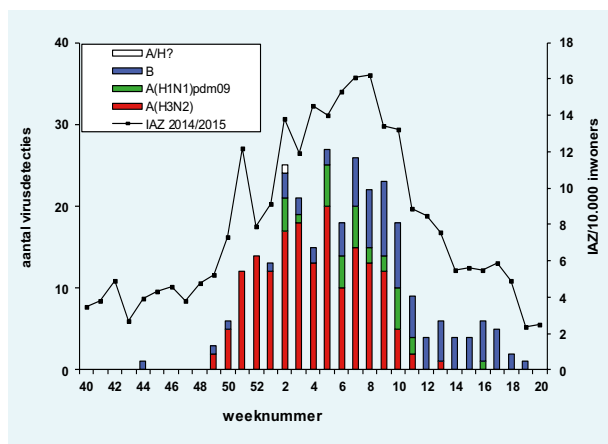
Karakterisering influenza A(H1N1)pdm09-virussen

Sinds het pandemisch verschijnen van A(H1N1)pdm09 in 2009 is er in dit subtype geen significante antigene drift opgetreden en heeft het vaccin optimale bescherming tegen de epidemische virusisolaten geboden (tabel 3, kader). Fylogenetische analyse lokaliseerde alle zes onderzochte A(H1N1)pdm09-influenzavirussen samen met de vaccin-referentiestam A/California/7/2009 in groep (clade) 6B.

Karakterisering influenza A(H3N2)-virussen

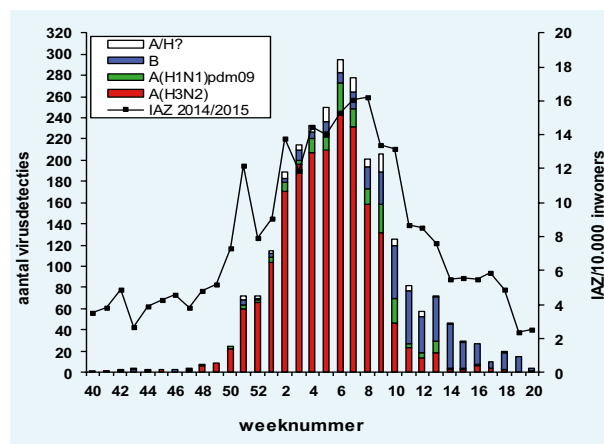
Onlangs is twijfel gerezen of de traditioneel uitgevoerde hemagglutinatieremmingstest met A(H3N2)-virussen

Figuur 2. Virusdetecties in het influenzaseizoen 2014/2015 in door de peilstations afgenomen monsters van patiënten met een influenza-achtig ziektebeeld (IAZ).



Afgebeeld zijn de wekelijkse aantallen influenzavirusdetecties, opgesplitst naar (sub)type. De aantallen zijn weergegeven als balken, af te lezen op de linker verticale as. Tevens is weergegeven het aantal IAZ'en per 10.000 inwoners per week, af te lezen op de rechter verticale as. Bronnen: RIVM en NIVEL Zorgregistraties eerste lijn.

Figuur 3. Virussen in het influenzaseizoen 2014/2015 verzonden naar het Erasmus MC vanuit diagnostische ziekenhuislaboratoria.



Afgebeeld zijn de wekelijkse aantallen virussen, opgesplitst naar (sub) type. De aantallen zijn weergegeven als balken, af te lezen op de linker verticale as. Tevens is weergegeven het aantal IAZ'en per 10.000 inwoners per week, af te lezen op de rechter verticale as. Bronnen: Erasmus MC en NIVEL Zorgregistraties eerste lijn.

Tabel 1. Influenzavirusdetecties (n = 397) door het NIC-RIVM in respiratoire monsters van patiënten met IAZ of een acute respiratoire infectie gemeld door de peilstations van week 40 van 2014 tot en met week 33 van 2015, en gerapporteerd door de peilstations van de EU-landen aan het European Centre for Disease Control and Prevention ECDC van week 40 van 2014 tot en met week 38 van 2015, n = 15,984. Bron: EDC.⁹

Type A		Type B	
Nederland: 276 (70 procent) Europa: 10680 (67 procent)		Nederland: 121 (30 procent) Europa: 5304 (33 procent)	
Gesubtypeerd 1)		Fylogenetische lijn bepaald*	
A(H1N1)pdm09: NIVEL: 35 (13 procent) ECDC: 2316 (23 procent)	A(H3N2): NIVEL: 240 (87 procent) ECDC: 7690 (77 procent)	B/Victoria/2/87: NIVEL: 2 (2 procent) ECDC: 32 (2 procent)	B/Yamagata/16/88: NIVEL: 119 (98 procent) ECDC: 1340 (98 procent)

* ECDC: type A: 658 niet gesubtypeerd, type B: 3932 geen fylogenetische lijn bepaald

Tabel 2. Influenzavirussen (n = 2688) ontvangen door het NIC-Erasmus MC uit Nederlandse diagnostische laboratoria van week 40 van 2014 tot en met week 33 van 2015.

Type A: 2258 (84 procent)		Type B: 430 (16 procent)	
Gesubtypeerd: 2146 (95 procent)	Niet gesubtypeerd 1: 112 (5 procent)	Fylogenetische lijn bepaald: 400 (93 procent)	Onbepaald*: 30 (7 procent)
A(H1N1): 194 (9 procent)	A(H3N2): 1952 (91 procent)	B/Victoria/2/87: 1 (0,2 procent)	B/Yamagata/16/88: 399 (99,8 procent)

* Bij deze monsters kon wegens onvoldoende virus geen subtypering met kweek of PCR worden verricht.

betrouwbare informatie geeft. Er zijn aanwijzingen dat de hemagglutinatatie van de recente A(H3N2)-virussen niet meer verloopt via het hemagglutinine maar via het neuraminidase.¹⁰ Oseltamivir zou het neuraminidase uitschakelen en de hemagglutinatatie weer doen berusten op het hemagglutinine. Later werden deze waarnemingen bevestigd, ook door ons laboratorium. Voor dit jaarverslag

werd daarom de hemagglutinatieremmingstest uitgevoerd met cavia-erythrocyten in aanwezigheid van 20 nM oseltamivir. Helaas daalde hierdoor bij het grootste deel van de kweekbare A(H3N2)-virussen de hemagglutinatietiter zo sterk dat het virus onbruikbaar werd voor de hemagglutinatieremmingstest. Bovendien vertoonde een groot aantal virussen helemaal geen hemagglutinatatieactiviteit.

Tabel 3. Antigene analyse van Nederlandse influenza A(H1N1)-virusisolaten uit het seizoen 2014/2015. Weergegeven zijn de titers van frettenantiserum bereid met referentiestammen, de vaccinstam en representatieve Nederlandse virusisolaten, bepaald in een hemagglutineringsremmingstest met kalkoenerythrocyten.

Virusstam*	Seizoen	HAR-titer* van antiserum van fretten geïnfecteerd met				
		A/California	X-181A	A/N/602/09	A/N/016/14	A/N/148/15
A/California/4/2009 [†]		2560	1280	1280	1280	2560
rA/California/7/09 X-181A [‡]		2560	2560	2560	2560	5120
A/Netherlands/602/2009	2009/2010	2560	2560	2560	2560	5120
A/Netherlands/016/2014	2013/2014	2560	2560	2560	2560	5120
A/Netherlands/148/2015	2014/2015	2560	2560	2560	2560	5120
A/Netherlands/407/2014	2014/2015	1280	1280	1280	1280	2560
A/Netherlands/466/2014	2014/2015	2560	2560	2560	2560	5120
A/Netherlands/485-2014	2014/2015	1280	1280	1280	1280	2560
A/Netherlands/576/2014	2014/2015	1280	1280	1280	1280	2560
A/Netherlands/875/2015	2014/2015	2560	2560	2560	2560	5120

* Alle virusstammen werden geïsoleerd op eieren of MDCK-cellen en kregen ten minste de laatste passage op MDCK-cellen. Virusnamen: de laatste twee cijfers geven het jaar aan waarin de stam werd geïsoleerd. De titer in de hemagglutineringsremmingstest is de omgekeerde waarde van de hoogste verdunning van het frettenantiserum in de betreffende kolom die de hemagglutinatie van kalkoenerythrocyten door een standaarddosis van het influenzavirus in de betreffende rij nog juist volledig remt. Homologe titers zijn vet gedrukt. Verschillen tussen titers uit verschillende kolommen zijn niet informatief. Binnen één kolom zijn de titers wel vergelijkbaar, waarbij alleen titerverschillen van ten minste een factor vier als significant worden beschouwd. Kader: zie tekst.

[†] A/California/4/2009 is nauw verwant aan A/California/7/2009, die de WHO-A(H1N1)-vaccinreferentiestam was/zal zijn voor de seizoenen 2010/2011 tot en met 2015/2016.

[‡] X-181A, een reassortant van A/California/7/2009, was/is de vaccinstam voor de seizoenen 2012/2013 tot en met 2015/2016.

Antigene drift

Het onderzoeken of er antigene drift is opgetreden, wordt bemoeilijkt doordat geen Nederlandse virusisolaten uit 2012/2013 en 2013/2014, slechts vijf virusisolaten uit 2014/2015 en drie antisera bereid met Nederlandse virusisolaten uit de periode 2009/2010 tot en met 2014/2015 beschikbaar waren voor antigenetische karakterisering (tabel 4, laatste vijf regels en drie laatste kolommen). Bovendien vertoonde het antiserum bereid met het prototype van 2014/2015, A/Netherlands/1810/2015, tegen de andere vier virusisolaten titers die alle een factor vier of meer afweken van de homologe titer; hierdoor is dit virus niet representatief voor de virussen uit 2014/2015.

Een ander probleem is dat de titers van de andere antisera tegen deze vijf virusisolaten sterk uiteenliepen. De antisera bereid met A/Netherlands/009/2010 en A/Netherlands/700/2011 gaven beide tegen de vijf virusisolaten titers die afweken van de homologe titer met factoren 1-16 (tabel 4, kolommen 9 en 10). Alleen de titers tegen A/Netherlands/748/2014 verschilden beide minder dan een factor vier van de homologe titers. Dit wijst op antigene drift. De WHO rapporteerde soortgelijke bevindingen.¹¹ Zij vond dat antisera bereid met celgekweekte virussen uit de seizoenen 2011/2012 en 2012/2013 tegen 27-60 procent van de virussen uit 2014/2015 titers gaven die minder dan een factor vier verschilden van de homologe titers. De antisera bereid met celgekweekte virussen uit de periode 2013/2014 (waaronder A/Switzerland/9715293/2013) gaven tegen

74-88 procent van de virussen uit 2014/2015 titers die minder dan een factor vier verschilden van de homologe titers. Deze WHO-gegevens wijzen erop dat de A(H3N2)-viruspopulatie sinds 2011/2012 verschoven is van virussen gemiddeld meer gelijkend op A/Victoria/361/2011-A/Texas/50/2012 (de vaccinreferentiestammen voor 2014/2015) naar virussen gemiddeld meer gelijkend op A/Switzerland/9715293/2013 (de vaccinreferentiestam voor 2015/2016, zie verderop in dit artikel). Deze en onze data wijzen erop dat er sinds 2011/2012 in subtype A(H3N2) een geringe antigene drift is opgetreden.

Gelijkenis met de vaccinstam

Antiserum bereid met het vaccivirus X-223A (reassortant van A/Texas/50/2012) vertoonde tegen de vijf virusisolaten uit 2014/2015 titers die 8-64-voud lager waren dan de homologe titers (tabel 4, kolom 6). Dit betekent een mismatch van het vaccivirus voor subtype A(H3N2) in seizoen 2014/2015. Een vaccinmismatch trad ook op in het seizoen 2013/2014. De oorzaak ligt niet alleen in eerdergenoemde antigene drift maar vooral in de passages van de vaccinstam in bebroede kippeneieren, noodzakelijk voor de vaccinproductie in eieren; bekend is dat eipassages kunnen resulteren in antigenetische veranderingen.

In februari 2015 adviseerde de WHO de huidige vaccinreferentiestam A/Texas/50/2012 voor het komende seizoen te vervangen door de stam A/Switzerland/9715293/2013.⁷ De data weergegeven in de kolommen 6 en 7 van tabel 4

Tabel 4. Antigene analyse van Nederlandse influenza A(H3N2)-virusisolaten uit het seizoen 2014/2015. Weergegeven zijn de titers van frettenantiserum bereid met referentiestammen, vaccinstammen en representatieve Nederlandse virusisolaten, bepaald in een hemagglutineringsremmingstest met cavia-erythrocyten in aanwezigheid van 20 nM oseltamivir.

Virusstam	Seizoen	HAR-titer* van antiserum van fretten geïnfecteerd met								
		Brisb	Perth	Vict	X-223A	Switz	N/377	N/009	N/700	N/1810
A/Brisbane/10/2007 [†]		1280	40	320	160	40	1280	40	20	40
A/Perth/16/2009 [‡]		40	2180	1280	160	40	20	80	40	160
A/Victoria/361/2011 [#]		160	320	1280	640	320	20	640	320	320
reass.Texas/X-223A [§]		320	640	2560	2560	320	20	640	320	320
A/Switzerland/2013 [¶]		40	40	1280	160	2560	20	160	40	160
A/Netherlands/348/2007	2007/2008	1280	80	640	160	80	640	160	20	80
A/Netherlands/377/2008	2007/2008	1280	40	640	160	80	2560	160	40	80
A/Netherlands/761/2009	2008/2009	160	40	320	80	80	20	40	20	20
A/Netherlands/009/2010	2009/2010	40	160	1280	80	80	20	320	80	40
A/Netherlands/700/2011	2011/2012	20	80	640	160	160	20	320	160	80
A/Netherlands/573/2014	2014/2015	40	80	80	40	40	< 10	80	80	40
A/Netherlands/748/2014	2014/2015	40	160	320	80	80	20	320	80	80
A/Netherlands/1293/2015	2014/2015	80	80	640	320	160	20	160	40	320
A/Netherlands/1679/2015	2014/2015	10	20	320	40	40	< 10	20	20	80
A/Netherlands/1810/2015	2014/2015	40	20	1280	320	160	20	80	40	1280

* Alle virusstammen werden geïsoleerd op eieren of MDCK-cellen en kregen ten minste de laatste passage op MDCK-cellen. Virusnamen: de laatste twee cijfers geven het jaar aan waarin de stam werd geïsoleerd. De titer in de hemagglutineringsremmingstest is de omgekeerde waarde van de hoogste verdunning van het frettenantiserum in de betreffende kolom die de hemagglutinaties van kalkoenerythrocyten door een standaarddosis van het influenzavirus in de betreffende rij nog juist volledig remt. Homologe titers zijn vet gedrukt. Verschillen tussen titers uit verschillende kolommen zijn niet informatief. Binnen één kolom zijn de titers wel vergelijkbaar, waarbij alleen titerverschillen van ten minste een factor vier als significant worden beschouwd. Kader: zie tekst.

[†] A/Brisbane/10/2007 was de WHO-A(H3N2)-vaccinreferentiestam voor de seizoenen 2008/2009 en 2009/2010.

[‡] A/Perth/16/2009 was de WHO-A(H3N2)-vaccinreferentiestam voor 2010/2011 en 2011/2012.

[#] A/Victoria/361/2011 was de WHO-A(H3N2)-vaccinreferentiestam voor 2012/2013. Het voor deze tabel gebruikte A/Victoria/361/2011-virus was een uitsluitend in MDCK-cellen gekweekt preparaat; het antiserum 'Vict' in de tabel was hiermee bereid.

[§] X-223A was de vaccinstam voor 2014/2015. Het is een reassortant van A/Texas/50/2012, een virus dat gelijk op A/Victoria/361/2011. Beide virussen waren WHO-A(H3N2)-vaccinreferentiestammen voor 2013/2014 en 2014/2015.¹³

[¶] A/Switzerland/9715293/2013 wordt de WHO-A(H3N2)-vaccinreferentiestam voor 2015/2016.⁷ Het hier gebruikte virus was passage E4E1MDCK1; het hier gebruikte antiserum was bereid met passage E4E1-virus.

suggereren anders, maar de WHO rapporteerde dat de nieuwe vaccinstam antigenetisch beter overeenkomt met de epidemische stammen van het seizoen 2014/2015 dan de oude vaccinstam A/Texas/50/2012.¹¹

Bij fylogenetische analyse van het hemagglutinatiegen bleek dat in het seizoen 2014/2015 in Europa de drie voornaamste circulerende clades waren: clade 3C.3b – de meeste virussen van deze clade gelijken antigenetisch op de twee vaccinreferentiestammen van het afgelopen seizoen, A/Victoria/361/2011 en A/Texas/50/2012 – en clades 3C.2a en 3C.3a.^{9,12} Volgens de WHO verschillen virussen van laatstgenoemde clades 3C.2a en 3C.3a antigenetisch van 3C.3b (vaccinmismatch) maar gelijken ze op de vaccinreferentiestam van het komende seizoen, A/Switzerland/9715293/2013, dat behoort tot clade

3C.3a.¹³ Op het NIC werden willekeurig 51 A(H3N2)-virussen uit Nederland geselecteerd voor fylogenetische analyse. Hiervan behoorden er 22 tot clade 3C.3b en 29 tot clade 3C.2a.

Karakterisering van influenza B-virussen van de B/Victoria/2/87-lijn

Van de drie gedetecteerde influenza B-virussen van de B/Victoria/2/87-lijn kon er geen worden gekweekt zodat antigenetische karakterisering van deze B-lijn niet mogelijk was.

Karakterisering van influenza B-virussen van de B/Yamagata/16/88-lijn

De antisera bereid met B/Netherlands/257/2014 en B/Netherlands/1551/2015 gaven beide tegen B/

Netherlands/257/2014 uit 2013/2014 en alle zes virusisolaten uit 2014/2015 titers die minder dan een factor vier afweken van de homologe titer (tabel 5, kader). In de B/Yamagata/16/88-lijn lijkt dus ten opzichte van 2013/2014 geen significante antigene drift te zijn opgetreden. De waarnemingen van de WHO waren verschillend.¹¹ Antisera bereid met celgekweekte B/Massachusetts/2/2012-achtige virussen (clade 2) respectievelijk celgekweekte B/Phuket/3073/2013-achtige virussen (clade 3) gaven tegen 20 procent respectievelijk 50 tot 100 procent van de virussen uit 2014/2015 titers die minder dan een factor vier verschilden van de homologe titers. Dit betekent wel antigene drift.

Antiserum bereid met BX-51B (reassortant van de vaccinreferentiestam B/Massachusetts/2/2012) vertoonde een klein verschil (gemiddeld viervoudig) tussen de titers van de zes Nederlandse virusisolaten uit het afgelopen seizoen en die van het homologe virus (tabel 5, kolom 4). Er zou dus een (geringe) *vaccinmismatch* voor de B/Yamagata/16/88-lijn zijn geweest. Dit was geheel in overeenstemming met wat de WHO rapporteerde.¹¹

De WHO beval in februari 2015 aan om de huidige vaccinreferentiestam B/Massachusetts/2/2012 te vervangen door de stam B/Phuket/3073/2013.⁷ De match van dit laatste virus met de zes virusisolaten uit 2014/2015 lijkt ook volgens onze resultaten beter dan die van B/Massachusetts/2/2012 (titerverschil bij B/Phuket/3073/2013 minder dan een factor vier, tabel 5, kolom 5). Fylogenetische analyse liet zien dat alle 20 onderzochte B/Yamagata/16/88-lijnvirussen van 2014/2015 behoorden tot clade 3, waarin zich ook B/Phuket/3073/2013 bevindt; de oude vaccinreferentiestam B/Massachusetts/2/2012 behoorde tot clade 2.

Vaccineffectiviteit

De vaccineffectiviteit was dit seizoen laag, vooral die van de A(H3N2)-component, wat verklaard wordt door de antigene drift binnen dit subtype.^{5,14,15}

Vaccinsamenstelling voor het seizoen 2015/2016

In februari 2015 adviseerde de WHO voor het influenzavaccin voor het seizoen 2015/2016 op het noordelijk halfrond de volgende samenstelling⁷:

Tabel 5. Antigene analyse van Nederlandse influenza B-virusisolaten van de fylogenetische B/Yamagata/16/88-lijn uit het seizoen 2014/2015. Weergegeven zijn de titers van frettenantiserum bereid met referentiestammen en representatieve Nederlandse virusisolaten, bepaald in een hemagglutinatieremmingstest met kalkoeneroerythrocyten.

Virusstam	Seizoen	HAR-titer* van antiserum van fretten geïnfecteerd met							
		Florida	BX-51B	Phuket	N/087/04	N/415/12	N/039/13/	N/257/14	N/1551/15
B/Florida/4/2006 [†]		2560	2560	2560	2560	1280	1280	1280	1280
R.Mass/BX-51B [‡]		1280	2560	640	1280	2560	640	320	640
Phuket/3073/2013 [#]		640	1280	1280	1280	640	640	1280	2560
B/Neth/087/2004	2003/2004	640	1280	640	2560	1280	1280	640	1280
B/Neth/415/2012	2011/2012	640	1280	640	1280	2560	640	640	640
B/Neth/039/2013	2012/2013	1280	1280	640	1280	1280	1280	1280	2560
B/Neth/257/2014	2013/2014	320	1280	640	1280	1280	320	640	1280
B/Neth/1551/2015	2014/2015	80	320	320	320	320	320	640	1280
B/Neth/382/2014	2014/2015	640	1280	640	1280	1280	640	1280	2560
B/Neth/416/2014	2014/2015	320	640	640	640	640	640	1280	1280
B/Neth/1250/2015	2014/2015	320	640	1280	1280	1280	640	1280	1280
B/Neth/2082/2015	2014/2015	80	640	320	640	640	320	1280	1280
B/Neth/2424/2015	2014/2015	80	320	320	160	160	160	1280	1280

* Alle virusstammen werden geïsoleerd op eieren of MDCK-cellen en kregen ten minste de laatste passage op MDCK-cellen. Virusnamen: de laatste twee cijfers geven het jaar aan waarin de stam werd geïsoleerd. De titer in de hemagglutinatieremmingstest is de omgekeerde waarde van de hoogste verdunning van het frettenantiserum in de betreffende kolom die de hemagglutinatie van kalkoeneroerythrocyten door een standaarddosering van het influenzavirus in de betreffende rij nog juist volledig remt. Homologe titers zijn vet gedrukt. Verschillen tussen titers uit verschillende kolommen zijn niet informatief. Binnen één kolom zijn de titers wel vergelijkbaar, waarbij alleen titerverschillen van ten minste een factor vier als significant worden beschouwd. Kader: zie tekst.

[†] B/Florida/4/2006 was de WHO B-vaccinreferentiestam voor 2008/2009.

[‡] BX-51B, een reassortant van B/Massachusetts/2/2012 (de WHO B-vaccinreferentiestam voor 2013/2014 en 2014/2015) was de vaccinstam voor 2013/2014 en 2014/2015.

[#] B/Phuket/3073/2013 wordt de WHO B-vaccinreferentiestam voor 2015/2016.

- voor A(H1N1)pdm09: een A/California/7/2009-achtig virus;
- voor A(H3N2): een A/Switzerland/9715293/2013-achtig virus;
- voor B: een B/Phuket/3073/2013-achtig virus, van de lijn B/Yamagata/16/88.

Gevoeligheid voor antivirale middelen

Uit het seizoen 2014/2015 werden 874 influenzavirussen, namelijk 718 A(H3N2), 130 A(H1N1)pdm09 en 26 type B, onderzocht op gevoeligheid voor antivirale middelen. Eén virusisolaat, een A(H1N1)pdm09-virus, vertoonde een sterk verminderde gevoeligheid voor oseltamivir. De virussen in het isolaat bevatten voor een deel de H275Y-aminozuursubstitutie in het neuraminidase, wat de oorzaak is van de verminderde gevoeligheid voor oseltamivir. Het virus werd wel normaal geremd door zanamivir. Alle huidige influenza A-virussen zijn van nature resistent tegen de M2-ionkanaalblokkers amantadine en rimantadine. Dit werd voor 10 A(H1N1)pdm09- en 48 A(H3N2)-virussen uit 2014/2015 met genetisch onderzoek bevestigd.

Conclusie

Het seizoen 2014/2015 kende een zeer langdurige griepiepidemie. Zoals meestal, was type A dominant waarbij de A(H3N2)-virussen overheersten. Bij de geïsoleerde A(H1N1)pdm09- en B-virussen van de B/Yamagata/16/88-lijn werd, in tegenstelling tot de bevindingen van de WHO, ten opzichte van 2013/2014 geen significante antigene drift geconstateerd. Bij de A(H3N2)-virussen is sinds 2011/2012 wel antigene drift opgetreden. De in 2014/2015 gebruikte vaccinstammen kwamen goed overeen met de epidemische A(H1N1)pdm09-virusisolaten, maar slecht met de A(H3N2)- en matig met de B-virusisolaten van de B/Yamagata/16/88-lijn. Van de 874 virussen die op gevoeligheid voor neuraminidaseremmers werden onderzocht was er één, een A(H1N1)pdm09-virusisolaat, dat een sterk verminderde gevoeligheid voor oseltamivir vertoonde; de virussen in het isolaat bevatten voor een deel de H275Y-aminozuursubstitutie in het neuraminidase.

Dankbetuigingen

Ook in het seizoen 2013/2014 waren de bijdragen van de peilstationhuisartsen van NIVEL Zorgregistraties eerste lijn – registratie van gevallen van IAZ en verzending van klinische monsters naar het NIC-RIVM – essentieel voor de influenzasurveillance in Nederland. Zonder de bereidwilligheid van de hoofden van de diagnostische laboratoria om influenzaviruspreparaten naar het Erasmus MC te sturen, was deze surveillance evenmin mogelijk geweest. The authors gratefully acknowledge the generous gift of influenza reference viruses and antisera from Dr. J. McCauley from the World Influenza Centre in London.

De auteurs danken R. van Beek, M. Pronk, M. Silva en H. de Gruyter (het NIC-Erasmus MC), M. Bagheri, T. Marzec, S. van den Brink, A-M. van den Brandt, P. Overduin en A. Teirlinck (het NIC-RIVM) en M. Heshusius-van Valen en J. Gravestijn (NIVEL) voor de uitstekende technische ondersteuning.

Belangenconflict

G.F. Rimmelzwaan is parttime medewerker van ViroClinics Biosciences BV, een Erasmus MC- spin-off die contractresearch uitvoert voor de farmaceutische industrie. De andere auteurs melden geen mogelijk belangenconflict.

Referenties

1. Shaw ML, Palese P. Orthomyxoviridae. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology* (pp. 1151-1185). 6th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2013.
2. Lindstrom SE, Hiromoto Y, Nishimura H, Saito T, Nerome R, Nerome K. Comparative analysis of evolutionary mechanisms of the hemagglutinin and three internal protein genes of influenza B virus: multiple cocirculating lineages and frequent reassortment of the NP, M, and NS genes. *J Virol* 1999;73:4413-26.
3. De Jong JC, Meijer A, Donker GA, van der Hoek W, de Lange MMA, Rimmelzwaan GF, et al. Het influenzaseizoen 2013/14 in Nederland: lage influenza-activiteit. *Ned Tijdschr Med Microbiol* 2014;22:153-61.
4. Donker GA. Jaarverslag 2014 van de Continue Morbiditeits Registratie peilstations Nederland, Utrecht: www.nivel.nl/peilstations.
5. Teirlinck AC, van Asten L, Brandsema PS, Dijkstra F, Donker GA, Euser SM, et al. Surveillance of influenza and other respiratory infections in the Netherlands: winter 2014/2015, RIVM rapport 2015-0042. Bilthoven, 2015: <http://www.rivm.nl/dsresource?objectid=rivmp:290866&type=org&disposition=inline>
6. Meijer A, Jonges M, Abbink F, Ang W, van Beek J, Beersma M, et al. Oseltamivir-resistant pandemic A(H1N1) 2009 influenza viruses detected through enhanced surveillance in the Netherlands, 2009-2010. *Antiviral Res* 2011;92:81-9.
7. WHO. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2015-2016 northern hemisphere influenza season. *Wkly Epidemiol Rec* 2015;90:97-108.
8. De Jong JC, Donker GA, Meijer A, van der Hoek W, de Lange MMA, Rimmelzwaan GF, et al. Het influenzaseizoen 2012/13 in Nederland: een milde maar langdurige epidemie. *Ned Tijdschr Med Microbiol* 2013;21:136-43.
9. ECDC. Fortnightly influenza surveillance overview per week 38, 2015: www.ecdc.europa.eu
10. Lin YP, Gregory V, Collins P, Kloess J, Wharton S, Cattle N, et al. Neuraminidase receptor-binding variants of human influenza A(H3N2) viruses resulting from substitution of aspartic acid 151 in the catalytic site: a role in virus attachment? *J Virol* 2010;84:6769-81.
11. WHO. Report prepared for the WHO annual consultation on the composition of influenza vaccine for the Northern Hemisphere 2015/16, 23[rd] – 25[th] February 2015. MRC, National Institute for Medical Research, 2015: <https://www.crick.ac.uk/media/221813/nimr-report-feb2015-web.pdf>.
12. WHO. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2015 southern hemisphere influenza season. *Wkly Epidemiol Rec* 2014;89:441-56.
13. WHO. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2014-2015 northern hemisphere influenza season. *Wkly Epidemiol Rec* 2014;89:93-104.
14. Pebody RG, Warburton F, Ellis J, Andrews N, Thompson C, von Wissmann B, et al. Low effectiveness of seasonal influenza vaccine in preventing laboratory-confirmed influenza in primary care in the United Kingdom: 2014/15 mid-season results. *Euro Surveill* 2015;20:21025.
15. D’Mello T, Brammer L, Blanton L, Kniss K, Smith S, Mustaqim D, et al. Update: Influenza activity United States, September 28, 2014-February 21, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2015;64:206-12.

Staphylococcal leukocidin receptor identification: hiding in plain sight

A.N. Spaan

Staphylococcus aureus is wereldwijd een van de meest voorkomende oorzaken van bacteriële infecties bij de mens. Neutrofiële granulocyten (fagocyten) vormen een eerste en cruciale verdedigingslinie van het menselijk immuunsysteem in reactie op een infectie met *S. aureus*. Omgekeerd beschikt *S. aureus* over allerhande strategieën om zich aan het immuunsysteem te onttrekken. Een belangrijk onderdeel van het bacteriële wapenarsenaal is de productie van cytolytische toxines. Stafylokokkenleukocidines vormen een groep van bicomponente porievormende toxines die in staat zijn de membraan van de fagocyt te beschadigen. Humane *S. aureus*-isolaten kunnen tot maar liefst vijf verschillende leukocidines tot expressie brengen: pantonvalentine leukocidin (PVL), γ -hemolysine AB en CB (HlgAB en HlgCB), leukocidine ED (LukED), en leukocidine AB (LukAB). De rol van deze verschillende toxines in de pathofysiologie van *S. aureus*-infecties is tot dusver onbegrepen.

De epidemiologische associatie van PVL met ernstige *S. aureus*-infecties heeft in het afgelopen decennium veel aandacht getrokken. Desondanks kon PVL in muizenmodellen niet als virulentiefactor worden geïdentificeerd. Door middel van een screening met monoklonale antilichamen gericht tegen myeloïde receptoren werd een interactie waargenomen tussen PVL en de humane C5a-receptoren C5aR en C5L2. PVL bindt deze complementreceptoren op de membraan van de fagocyt, en gebruikt ze vervolgens om de cel door middel van porievorming te doden. De interactie van PVL met de C5a-receptoren verklaart niet alleen de specificiteit van PVL voor fagocyten, maar ook de diersoortspecificiteit. PVL is namelijk niet compatibel met de muizen-C5a-receptoren, waardoor muisfagocyten resistent zijn tegen het toxine. De moleculaire bouw van de konijnenreceptoren is echter wel verenigbaar met PVL. Met deze bevindingen kan worden vastgesteld dat de waarnemingen gedaan bij konijnen correct waren en PVL inderdaad bijdraagt aan ernstige infecties met *S. aureus*.

In tegenstelling tot PVL bevatten alle humane *S. aureus*-isolaten de genen voor HlgAB en HlgCB. Na de ontdekking van de PVL-receptoren rees het vermoeden dat HlgAB en HlgCB mogelijk soortgelijke receptoren gebruiken. Hiertoe werd een panel van complement- en chemokinereceptoren

tot overexpressie gebracht op cellijnen. Vervolgens werden deze cellen gescreend op cytotoxische gevoeligheid voor HlgAB en HlgCB. Net als PVL richt HlgCB zich op de C5a-receptoren C5aR en C5L2. HlgAB daarentegen bindt de interleukine-8 receptoren CXCR1 en CXCR2, en de chemokinereceptor CCR2. Van alle vijf receptoren is enkel de muizen-CCR2 compatibel met HlgAB. Door middel van een muizenperitonitismodel kon worden vastgesteld dat HlgAB op een CCR2-afhankelijke wijze bijdraagt aan het ontstaan van *S. aureus*-bacteriëmie.

Ondanks de naam vertonen de leukocidines HlgAB en LukED ook hemolytische activiteit. Gebaseerd op de gemeenschappelijke myeloïde receptoren van beide toxines, CXCR1 en CXCR2, ontstond de hypothese dat de hemolytische activiteit door een relateerde erytroïde receptor gedreven wordt. Deze veronderstelling bleek juist: de aanwezigheid van het duffyantigeen (DARC) op erythrocyten is noodzakelijk voor hemolyse door HlgAB en LukED. Op erythrocyten van veel mensen van Afrikaanse origine is DARC afwezig, en bloed van deze individuen is in vitro resistent tegen hemolyse door *S. aureus*. Beschikbaarheid van ijzer is cruciaal voor bacteriële groei. Over het vrijmaken van ijzerhoudend hemoglobine uit erythrocyten was tot dusver weinig bekend, en de nieuwe inzichten suggereren een centrale rol van beide toxines in dit proces. Resistentie tegen eerstelijnsantibiotica, hypervirulentie van sommige epidemische stammen, en ogenschijnlijk verhoogde gevoeligheid voor ernstige infecties van sommige bevolkingsgroepen maken het noodzakelijk alternatieve geneesmiddelen en een succesvol vaccin tegen *S. aureus* te ontwikkelen. De bevindingen van dit proefschrift sluiten de discussies rondom enkele lang bestaande controverses, bieden mogelijke verklaringen voor verhoogde individuele gevoeligheid voor ernstige infecties met *S. aureus*, en verschaffen hoopvolle aanknopingspunten voor de ontwikkeling van nieuwe behandelingsmodaliteiten.

András Spaan promoveerde op 18 juni 2015 aan de Universiteit Utrecht op zijn proefschrift *Staphylococcal leukocidin receptor identification: hiding in plain sight*. Zijn doctoraat werd *cum laude* verleend. Promotor was prof. dr. J.A.G. van Strijp; copromotor was dr. K.P.M. van Kessel.

Nobelprijs voor de parasitologie

W.A. Stolk, S.J. de Vlas

Twee parasitaire infectieziekten die de mensheid in de tropen sinds jaar en dag hebben geteisterd, gaan hun ondergang tegemoet. Uit steeds meer landen komen berichten dat deze ziekten zo goed als geëlimineerd zijn. Twintig jaar geleden waren er nog 120 miljoen mensen met lymfatische filariase (olifantsziekte) en 37 miljoen met onchocerciasis (rivierblindheid), en velen van hen kampten met de gruwelijke, onomkeerbare gevolgen, zoals opgezwollen ledematen (olifantsbenen) en blindheid. Anno 2015 zijn deze aantallen meer dan gehalveerd, komen er weinig nieuwe infecties bij, en vrijwel helemaal geen ernstige ziektegevallen. Voorwaar een indrukwekkende prestatie!

Dit succes zou niet mogelijk zijn geweest zonder het geneesmiddel ivermectine, dat zowel tegen onchocerciasis als lymfatische filariase werkzaam is, bij dit laatste ziektebeeld in combinatie met albendazol. Ivermectine wordt op grote schaal gebruikt in de veterinaire wereld. Farmaceut Merck verdient daar voldoende aan om al jarenlang ivermectine gratis beschikbaar te stellen aan alle mensen in Afrika die het nodig hebben, en dat voor zolang als nodig is. Sinds 1987 is het duizelingwekkende aantal van 2,3 miljard gratis behandelingen verstrekt. De tabletten worden uitgedeeld door duizenden lokale vrijwilligers, via jaarlijkse massabehandelingen op basis van een infrastructuur opgezet door goed georganiseerde internationale bestrijdingsprogramma's. De fabriek voor de productie van ivermectine is overigens gevestigd in Haarlem. Het genereuze gebaar van Merck heeft navolging verkregen en inmiddels zijn geneesmiddelen tegen enkele andere zogeheten 'neglected tropical diseases' gratis beschikbaar in endemische landen in de tropen.

Begin oktober kwam het verrassende bericht dat de Nobelprijs voor geneeskunde is toegekend aan de ontwikkelaars van avermectine, waartoe ook ivermectine behoort. Het gaat om de Japanner Satoshi Ōmura en de Ier William C. Campbell. Dr. Ōmura zocht naar bioactieve stoffen in de bodem en isoleerde het interessante nieuwe micro-organisme *Streptomyces avermitilis*. Dr. Campbell ontdekte daarvan de antiparasitaire werking en karakteriseerde het effectieve bestanddeel, dat de naam avermectine kreeg, en waaruit later ivermectine is afgeleid. Deze twee onderzoekers zijn relatief onbekend. Een zoektocht in PubMed naar ivermectine en hun namen levert slechts een

bescheiden aantal hits op. Desalniettemin is het volkomen terecht dat degenen die de ontwikkeling van ivermectine mogelijk hebben gemaakt op het schild worden gehesen.

De afdeling Maatschappelijke gezondheidszorg van het Erasmus MC in Rotterdam doet al jaren onderzoek naar ivermectine, in het bijzonder naar het bepalen van de beste strategieën om het geneesmiddel in te zetten: welke gebieden verdienen prioriteit, wie moeten er worden behandeld en hoe vaak?^{1,2} Met wiskundige simulatiemodellen wordt berekend wat de impact van elke strategie is op vermeden ziekte en de kans op eliminatie, wat weer kan worden afgezet tegen investeringen als het aantal (gratis) tabletten en (niet gratis) mankracht. De berekeningen van het verwachte moment van eliminatie van rivierblindheid per land zijn gebaseerd op een van deze modellen. Momenteel is de belangrijkste vraag wanneer er in gebieden met ivermectine kan worden gestopt, en op basis van welke criteria.

Lymfatische filariase en rivierblindheid zullen hopelijk over afzienbare tijd volledig uitgeroeid zijn en definitief tot het verleden behoren. Ōmura en Campbell, die aan de basis van dit succes hebben gestaan, zullen dankzij hun Nobelprijs nooit meer worden vergeten. De donaties van de farmaceutische industrie en de inzet van de vele duizenden vrijwilligers vormen een voorbeeld voor de bestrijding van andere (parasitaire) infectieziekten in de toekomst.

Referenties

1. Stolk WA, ten Bosch QA, de Vlas SJ, Fischer PU, Weil GJ, Goldman AS. Modeling the impact and costs of semiannual mass drug administration for accelerated elimination of lymphatic filariasis. *Plos Negl Trop Dis*. 2013;7:e1984.
2. Coffeng LE, Stolk WA, Hoerauf A, Habbema D, Bakker R, Hopkins AD, de Vlas SJ. Elimination of Africa onchocerciasis: modeling the impact of increasing the frequency of ivermectin mass treatment. *PloS One*. 2014;9:e115886.

W.A. Stolk, S.J. de Vlas, afdeling Maatschappelijke
Gezondheidszorg, Erasmus MC, Rotterdam,
e-mail: w.stolk@erasmusmc.nl, s.devlas@erasmusmc.nl

VRE: een BRMO of toch niet?

Uitkomsten van een peiling onder deskundigen

M.A. Kusters-van Someren, J.W. Dorigo-Zetsma en J.A.J.W. Kluytmans

Datum van de bijeenkomst: 11-9-2015

Aanwezigen: Jan Kluytmans, Wendelien Dorigo-Zetsma, Andreas Voss, Ed IJzerman, Marc Bonten, Greet Vos, Anne-Marie van Elsacker, Alphons Horrevorts, James Cohen Stuart, Karin Ellen Veldkamp, Juliette Severin, Annelies Verbon, Astrid Oude Lashof, Dianne van de Pas, Margo Kusters

Aanleiding

Er is de laatste tijd op diverse plaatsen discussie ontstaan over nut en noodzaak van de bestrijding van VRE (Vancomycine Resistente Enterokokken). Dit naar aanleiding van een aantal epidemieën die aanzienlijke inspanningen eisten om te bestrijden. Gezien de geringe virulentie van enterokokken wordt ter discussie gesteld of de kosten van de bestrijding opwegen tegen de baten.

De NVMM heeft daarop het initiatief genomen om het draagvlak voor bestrijding te peilen onder een aantal deskundigen uit de vereniging aangevuld met een afvaardiging vanuit de WIP.

De discussie is gevoerd aan de hand van een notitie die is opgesteld door Ellen Mascini, voorzitter van de regieraad van de WIP

Discussiepunten

Prevalentie

Stelling: Op dit moment is de prevalentie van VRE buiten het ziekenhuis laag.

Er worden wisselende getallen genoemd: Nijmegen, prevalentie in 200 huisartsmonsters 3 procent. UMCU noemt 0,1 procent. De aanwezigen concluderen dat er geen goed inzicht is in de prevalentie van VRE buiten het ziekenhuis en of er geografisch verschillen zijn. De gegevens die er zijn duiden op een lage prevalentie. Dit maakt bestrijding, die met name plaatsvindt in zorginstellingen, in principe mogelijk.

Virulentie

Stelling: de virulentie van VRE is zeer beperkt.

Deze stelling wordt breed gedragen. Maar voor bepaalde patiëntenpopulaties kunnen VRE wel gevolgen hebben. Dit zijn met name de patiënten op de afdelingen ICU, hematologie (MDL), hemato-oncologie, cardiochirurgie en orthopedie. De eerste studieresultaten laten zien dat VRE

waarschijnlijk niet tot ernstiger gevolgen leiden dan ARE. Wel kan de ziektelast (in dit geval het aantal mensen dat ziek wordt) toenemen als VRE endemisch wordt. Of dit ook daadwerkelijk het geval is en in welke mate is niet duidelijk.

Verspreiding

Stelling: zonder aanvullende maatregelen bij besmette patiënten verspreiden VRE zich naar andere patiënten. Deze stelling wordt breed gedragen, met als kanttekening dat verspreiding wel ingeperkt kan worden als de basale schoonmaak en onderhoud van bijvoorbeeld bedpanspoelers goed op orde is. De aanwezigen zijn van mening dat het loslaten van de huidige beheersmaatregelen zal leiden tot een brede verspreiding van VRE (zoals ook bij ARE gebeurd is) en dat dit proces dan waarschijnlijk onomkeerbaar is.

Bestrijdingsmaatregelen

Hoewel er de laatste jaren een aantal omvangrijke epidemieën zijn geweest, zijn de meeste ziekenhuizen tot op heden met reguliere maatregelen die gelden tijdens een uitbraak in staat gebleken om VRE te bestrijden. VRE worden hier incidenteel gevonden en na contactonderzoek blijkt doorgaans dat er geen of zeer beperkte verspreiding is geweest.

Bij een aantal instellingen met grote epidemieën bleken ernstige tekortkomingen in de schoonmaak- en of desinfectieprocedures te bestaan. VRE werden hier gezien als indicator voor algemene tekortkomingen. De suggestie wordt gedaan om een analyse te doen of bestrijding van VRE gepaard gaat met een reductie van andere ziekenhuispathogenen, zoals norovirus en *Clostridium difficile*.

Invloed op antibioticabeleid

Er is een grote mate van overeenstemming dat het loslaten van de VRE-bestrijding aanzienlijke gevolgen zal hebben voor het antibioticabeleid. Met name het gebruik van linezolid en daptomycine zal aanzienlijk stijgen wat met een toename van de directe kosten gepaard zal gaan. Daarnaast hebben deze middelen meer bijwerkingen. Tenslotte is dit ook strijdig met de uitgangspunten van duurzaam gebruik van antibiotica. Deze effecten worden

als belangrijk argument genoemd om de bestrijding te handhaven.

Overdracht van *vanA* op *S. aureus*

Het theoretische risico van de overdracht van *vanA* op *S. aureus* wordt niet als een realistische bedreiging gezien, het treedt zeer zelden op. In de VS is al jaren sprake van endemische verspreiding van VRE en MRSA en daar is overdracht slechts zeer sporadisch waargenomen.

Aansluiting houden bij internationale richtlijnen

Dit wordt niet als belangrijk argument gezien. Als er goede redenen zijn om het in Nederland anders te doen dan zou dat leidend moeten zijn. Op andere gebieden, bijvoorbeeld MRSA, voert Nederland al decennialang een afwijkend beleid. Een aparte VRE-richtlijn is niet nodig en derhalve ook niet wenselijk. Een paar VRE-specifieke aspecten kunnen eenvoudig in de huidige BRMO-richtlijn of een aparte toolkit (niet een richtlijn) die beter verspreid is, worden opgenomen.

Resumerend, de mening van de deskundigen

Als de specifieke bestrijding van VRE wordt losgelaten, zal de prevalentie stijgen. Dit leidt tot een onomkeerbare situatie. Dit vraagt om een zorgvuldige afweging alvorens tot afschaffing te besluiten.

Als VRE endemisch wordt dan zal dit waarschijnlijk voor de ziektelast beperkte gevolgen hebben, afgemeten aan wat bij ARE wordt gezien, en dit beperkt zich grotendeels tot bovengenoemde patiëntenpopulaties. Voor een betere inschatting is nader onderzoek nodig. Voor het antibioticabeleid heeft het loslaten van de bestrijding wel ingrijpende gevolgen; meer kosten en meer bijwerkingen. Verder wordt opgemerkt dat VRE-bestrijding samenhangt met een goede schoonmaak en effectieve desinfectie.

Na afloop van de discussie is onder de deskundigen gepeild of VRE als een BRMO beschouwd moet blijven worden. Er is één persoon die twijfelt, één onthoudt zich van stemming. De overige deelnemers vinden het op dit moment niet aan de orde om de bestrijding los te laten.

Welke gegevens moeten er komen om een betere afweging te kunnen maken?

1. Wat zijn de kosten om een levensjaar te redden?
2. Wat is de bijvangst van controleren op VRE? Hypothese: door VRE te controleren voorkom je ook andere uitbraken?
3. Hoeveel patiënten zijn er waarbij een ARE-infectie heel grote consequenties heeft? Eerste inschatting uit een case-controle studie suggereert dat het er maar weinigen zijn.
4. Wat zijn de gevolgen van een endemisch VRE-niveau voor het antibioticabeleid en de kosten daarvan?

Verkorte productinformatie ECALTA (opgesteld: september 2014).
De volledige productinformatie (SPC) is op aanvraag verkrijgbaar.
Samenstelling: ECALTA bevat 100 mg anidulafungine per injectieflacon. De gereconstitueerde oplossing bevat 3,33 mg/ml anidulafungine en de verdunde oplossing bevat 0,77 mg/ml anidulafungine. **Indicaties:** Behandeling van invasieve candidiasis bij volwassen patiënten. **Farmacotherapeutische groep:** Antimycotica voor systemisch gebruik, andere antimycotica voor systemisch gebruik, ATC-code: J02 AX 06. **Dosering:** De behandeling met ECALTA moet worden uitgevoerd door een arts die ervaring heeft met de behandeling van invasieve schimmelinfecties. De eenmalige aanvangsdosis van 200 mg dient op dag 1 te worden toegediend, daarna gevolgd door dagelijks 100 mg. Er zijn onvoldoende gegevens beschikbaar om een behandeling van langer dan 35 dagen met de 100 mg dosis te onderbouwen. De veiligheid en werkzaamheid van ECALTA bij kinderen jonger dan 18 jaar zijn niet vastgesteld. Op basis van de momenteel beschikbare gegevens kan geen doseringsadvies worden gedaan. Het wordt aanbevolen om ECALTA toe te dienen met een infusiesnelheid die niet hoger is dan 1,1 mg/minuut (overeenkomend met 1,4 ml/minuut wanneer gereconstitueerd en verdund conform instructies). ECALTA mag niet worden toegediend als een bolusinjectie. **Contra-indicaties:** Overgevoeligheid voor de werkzame stof of voor één van de hulpstoffen; overgevoeligheid voor andere geneesmiddelen uit de groep van echinocandinen. **Waarschuwingen en voorzorgen:** ECALTA is niet onderzocht bij patiënten met *Candida endocarditis*, osteomyelitis of meningitis. **De werkzaamheid van ECALTA is alleen geëvalueerd in een beperkt aantal neutropene patiënten.** Verhoogde waarden van leverenzymen zijn waargenomen bij gezonde personen en patiënten die met anidulafungine werden behandeld. Bij een aantal patiënten met een ernstige onderliggende medische aandoening die gelijktijdig meerdere geneesmiddelen kregen naast anidulafungine, zijn klinisch significante leverafwijkingen opgetreden. Gevallen van significante leverstoornis, hepatitis en leverfalen kwamen soms voor tijdens klinische onderzoeken. Bij patiënten met verhoogde leverenzymen tijdens behandeling met anidulafungine dient te worden gecontroleerd op tekenen van verslechterende leverfunctie en dient het risico/voordeel van voortzetting van behandeling met anidulafungine geëvalueerd te worden. Anafylactische reacties, waaronder shock, zijn gemeld bij het gebruik van anidulafungine. Indien deze reacties voorkomen, dient de behandeling met anidulafungine te worden stopgezet en dient passende behandeling te worden gegeven. Infusiegerelateerde bijwerkingen zijn gemeld bij het gebruik van anidulafungine, waaronder uitslag, urticaria, blozen, pruritus, dyspneu, bronchospasmen en hypotensie. Infusiegerelateerde bijwerkingen komen weinig voor wanneer de snelheid waarmee anidulafungine wordt geïnfundeed niet hoger is dan 1,1 mg/minuut. In een onderzoek bij ratten is vergering van infusie-gerelateerde reacties door gelijktijdige behandeling met anesthesica waargenomen waarvan de klinische relevantie onbekend is. Men dient voorzichtig te zijn bij het gelijktijdig toedienen van anidulafungine en anesthesica. Patiënten met een zeldzame erfelijke fructose-intolerantie dienen dit geneesmiddel niet te gebruiken. **Bijwerkingen:** Bijwerkingen waren meestal licht tot matig en leidden zelden tot stopzetting van de behandeling. De meest gerapporteerde, zeer vaak voorkomende bijwerkingen ($\geq 1/10$) zijn: hypokaliëmie, diarree, misselijkheid. Vaak ($\geq 1/100$, $< 1/10$) zijn waargenomen: hyperglykemie, convulsie, hoofdpijn, hypotensie, hypertensie, bronchospasme, dyspneu, braken, verhoogde alanine-aminotransferase, verhoogde alkalische fosfatase in het bloed, verhoogde aspartaat-aminotransferase, verhoogde bilirubine in het bloed, cholestase, uitslag, pruritus, verhoogd creatininegehalte in het bloed. Soms ($\geq 1/1000$, $< 1/100$) zijn waargenomen: coagulopathie, blozen, opvliegers, pijn in de bovenbuik, verhoogde gamma-glutamyl-transferase, urticaria, pijn op de infusieplaats. Bijwerkingen van spontane meldingen met frequentie niet bekend (kan met de beschikbare gegevens niet worden bepaald) zijn: anafylactische shock, anafylactische reactie (zie "Waarschuwingen en voorzorgen"). **Afleveringsstatus: UR. Verpakking en Registratienummer:** ECALTA, 100 mg poeder voor concentraat voor oplossing voor intraveneuze infusie: EU/1/07/416/002 (1 injectieflacon met 100 mg poeder). **Vergoeding en prijzen:** ECALTA wordt vergoed volgens de beleidsregel dure geneesmiddelen in ziekenhuizen. Voor prijzen wordt verwezen naar de Z-Index taxen. **Voor medische informatie over dit product belt u met 0800-MEDINFO (6334636). Registratiehouder:** Pfizer Limited, Ramsgate Road, Sandwich, Kent CT13 9NJ, Verenigd Koninkrijk. **Neem voor correspondentie en inlichtingen contact op met de lokale vertegenwoordiger: Pfizer bv, Postbus 37, 2900 AA Capelle a/d IJssel.**

1. Reboli AC et al; Anidulafungin Study Group. Anidulafungin versus fluconazole for invasive candidiasis. *New England Journal of Medicine* 2007;356(24):2472-82. * 2. Glöckner et al, Treatment of invasive candidiasis with echinocandines. *Mycoses*. 2009 Nov;52(6):476-86. 3. Ecalta 2014 Summary of Product Characteristics 4. Stichting Werkgroep Antibioticabeleid (SWAB), Optimaliseren van het antibioticabeleid in Nederland XII, SWAB-richtlijnen voor de behandeling van invasieve schimmelinfecties, September 2008. 5. Joseph J.M et al; Anidulafungin: a drug evaluation of a new echinocandin; *Expert Opin Pharmacother*. 2008 Sep;9(13):2339-48.
*In deze studie werd anidulafungin-IV vergeleken met fluconazol-IV bij 245 patiënten met invasieve candidiasis. Het primaire eindpunt was globale respons (microbiologisch en klinisch) aan het eind van de IV-behandelperiode.



14.EC.20.5

De rol van *Prevotella copri* bij reumatoïde artritis

M.J. de Graaf, E. Heikens en H. Leavis

Reumatoïde artritis (RA) is een veel voorkomende systemische auto-immuunziekte waarbij vooral gewrichten van handen en polsen betrokken zijn. Ondanks onduidelijkheden over de etiologie, wordt deze gezien als multifactorieel waarbij zowel genetische als omgevingsfactoren betrokken zijn. Een langdurige preklinische auto-immuunfase gaat vooraf aan het optreden van klinische ziekte. Op basis van dierexperimenteel onderzoek lijkt de intestinale microbiota betrokken in het ontwikkelen van systemische inflammatie welke uiteindelijk resulteert in artritis bij RA.¹ De intestinale microbiota is het complex van microben die aanwezig zijn in de tractus digestivus.

In het tijdschrift *eLife* verscheen in november 2013 een belangrijk artikel waarin een uitgebreide studie wordt beschreven die de rol van het intestinale microbiom bij het ontwikkelen van RA onderzoekt.² In deze studie werd het humane intestinale microbiom vergeleken tussen vier groepen patiënten: patiënten met onbehandelde vroege RA (NORA) (n = 44), patiënten met chronische behandelde RA (n = 26), patiënten met behandelde arthritis psoriatica (n = 16) en een controlegroep bestaande uit gezonde vrijwilligers (n = 28). De vertegenwoordigers in de controlegroep waren geselecteerd op leeftijd en geslacht. Door middel van 16S rRNA-sequencing op feces werd in het fecale microbiom van de NORA-groep in vergelijking met de andere groepen een oververtegenwoordiging van *Prevotella* spp. geïdentificeerd. In de andere groepen was *Bacteroides* spp. de meest dominante species. *Bacteroides* spp. en andere bacteriën, zoals *Lachnospiraceae* en cluster XIV-*Clostridia* die belangrijk zijn voor een gezonde darmflora, waren in de NORA-groep minder prevalent (figuur 1). Het meest voorkomende taxon in het microbiom van de NORA-groep was 'Prevotella operational taxonomic unit 4' (OTU4), door middel van 'shotgun sequencing' geïdentificeerd als *Prevotella copri*. *P. copri* bleek aanwezig bij 33 van de 44 patiënten in de NORA-groep (75 procent), bij 6 van de 28 individuen in de gezonde controlegroep (21,4 procent), bij 3 van de 26 patiënten in de groep met chronische behandelde RA (11,5 procent) en bij 6 van de 16 patiënten in de arthritis psoriaticagroep (37,5 procent). *P. copri* is dus statistisch gezien sterker geassocieerd met de NORA-groep dan de andere groepen en zou daarom wel eens een rol kunnen spelen in de pathogenese van RA.

Bij 35 individuen met een oververtegenwoordiging van *P. copri* in het fecale microbiom, met NORA of gezonde


controlepersonen, werd shotgun sequencing van het *P. copri*-genoom toegepast. Uit deze analyse bleek dat het genoom van *P. copri*, gevonden bij NORA-patiënten, bepaalde 'open reading frames' (ORF's) bevat die meestal afwezig zijn in het genoom van *P. copri* dat werd gevonden in de gezonde controlegroep. Twee van deze ORF's coderen voor een ijzertransporter. Ijzertransporters zijn bekende virulentiefactoren bij andere bacteriën. Deze resultaten suggereren dat bepaalde genen kunnen dienen als biomarkers voor identificatie van potentieel 'ziekmakende' *Prevotella*.

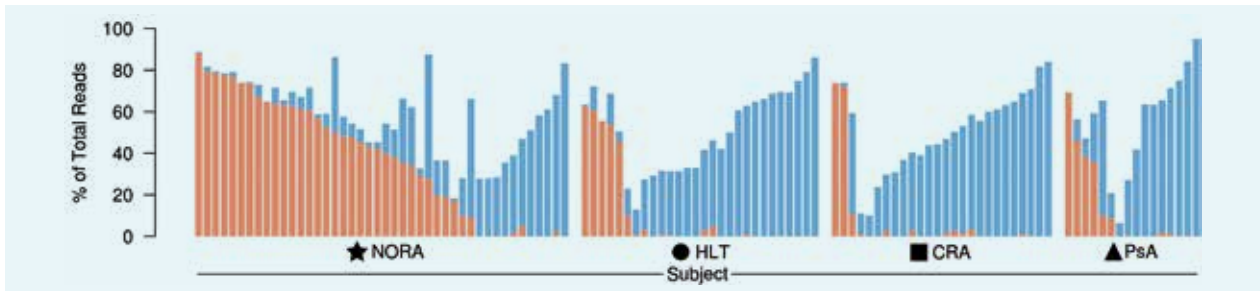
Bacteroides spp. en *Prevotella* spp. zijn genetisch gezien nauw aan elkaar verwant, maar komen niet gelijktijdig voor als dominante species in één individu. Door middel van shotgun sequencing werd het *P. copri*-genoom vergeleken met het genoom van *Bacteroides* spp., de meest dominante species in de andere drie groepen. Een aantal genen was alleen aanwezig in *P. copri* en afwezig in *Bacteroides* spp. Het betrof genen die coderen voor superoxidase-reductase en fosfoadenosine-fosfosulfaat. Deze twee enzymen resulteren mogelijk in resistentie van *P. copri* tegen zuurstofradicalen en productie van inflammatoire eiwitten. Dit suggereert dat *P. copri* goed kan overleven in een inflammatoire omgeving, maar er kan op basis van deze gegevens niet worden bepaald of aanwezigheid van *P. copri* in de darmen leidt tot de ontwikkeling en het persisteren van inflammatie in de darmen, dan wel dat de aanwezigheid van *P. copri* in de darmen een consequentie is van inflammatie.

Ook de mate van oververtegenwoordiging van *P. copri* in het fecale microbiom bij NORA-patiënten met en zonder bekende risicoallelen voor de ontwikkeling van RA werd bestudeerd. Ondanks dat bij beide patiëntengroepen *P. copri* domineert in het fecale microbiom, bleek uit deze analyse dat de relatieve hoge aanwezigheid van *P. copri* bij patiënten met een bekend risicoallel significant lager was dan bij patiënten zonder risicoallel voor RA. De auteurs hypothesiseren dat bij de aanwezigheid van risicoallelen mogelijk minder bacteriën nodig zijn om ziekte te induceren.

M.J. de Graaf, AIOS Medische Microbiologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht. E. Heikens, arts-microbioloog, Universitair Medisch Centrum Utrecht. H. Leavis, internist-klinisch immunoloog, Universitair Medisch Centrum Utrecht. Correspondentieadres: M.J. de Graaf, Universitair Medisch Centrum Utrecht, e-mailadres: M.J.deGraaf-16@umcutrecht.nl.

Figuur 1. Door middel van 16S RNA-sequencing op feces van 114 personen met en zonder artritis werd het intestinale microbioom bestudeerd. In de NORA-groep werd een oververtegenwoordiging van *Prevotella* spp. (rood) gevonden, in de andere groepen een oververtegenwoordiging van *Bacteroides* spp. (blauw). In de figuur wordt per groep (NORA, HLT, CRA, PsA) per persoon de aanwezigheid van *Prevotella* spp. en *Bacteroides* spp. getoond, gerangschikt naar afname van *Prevotella* en toename van *Bacteroides*.

Bron: Jose U Scher et al. eLife Sciences 2013;2:e01202. 



NORA = patiënten met onbehandelde vroege reumatoïde artritis, HLT = gezonde controlegroep, CRA = patiënten met chronische behandelde reumatoïde artritis, PsA = patiënten met behandelde artritis psoriatica.

Vervolgens werden door middel van een colitismuismodel de pro-inflammatoire eigenschappen van *P. copri* nader bestudeerd. Muizen gekoloniseerd met *P. copri* werden vergeleken met muizen gekoloniseerd met commensaal *Bacteroides thetaiotamicron* na inductie van chemische colitis. Er werd een associatie gevonden tussen kolonisatie met *P. copri* en een verergering van colitis. Dit bleek uit een significant ernstiger inflammatie van het darmepitheel en grotere toename van gewichtsverlies in de groep muizen gekoloniseerd met *P. copri* in vergelijking met de groep muizen gekoloniseerd met *B. thetaiotamicron* (figuur 2a en 2b). Om een causale relatie van expansie van *P. copri* bij de pathogenese van RA nader te onderzoeken, zou het interessant zijn om het effect van kolonisatie op artritis te bestuderen in een muismodel voor artritis met kolonisatie van *P. copri* versus *B. thetaiotamicron*.


Op basis van dit onderzoek kan worden geconcludeerd dat *P. copri* oververtegenwoordigd is in het intestinale microbioom bij onbehandelde RA-patiënten. Hoe de aanwezigheid van

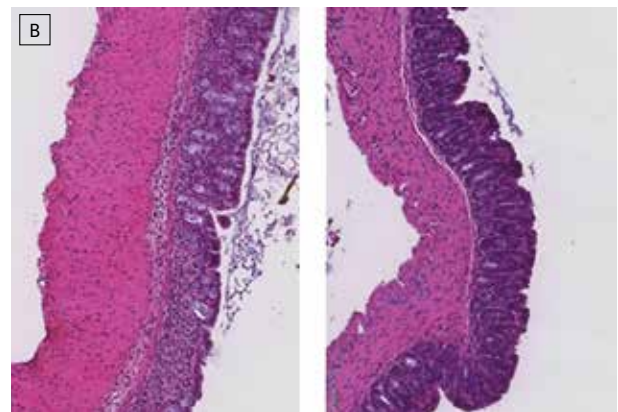
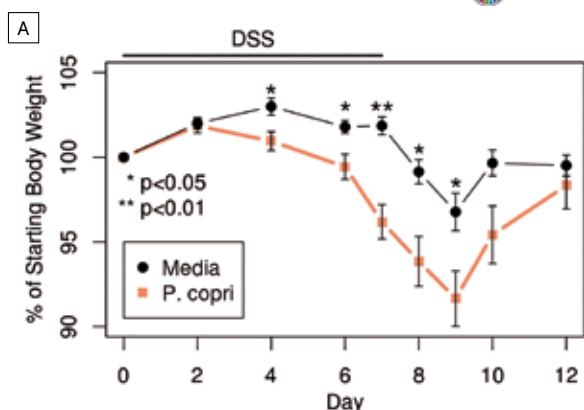
pro-inflammatoire *P. copri* in de darmen kan leiden tot het ontstaan van inflammatie elders in het lichaam, in dit geval in de gewrichten, dient verder te worden onderzocht. *P. copri* lijkt te gedijen in een inflammatoire omgeving en zorgt mogelijk zelfs voor een versterkte ontstekingsreactie in de darmen. Er is echter meer onderzoek nodig om te bepalen of er een causaal verband is tussen het ontstaan van RA en de aanwezigheid van *P. copri*. Indien er een causaal verband gevonden wordt tussen het intestinale microbioom en reumatoïde artritis, biedt dit mogelijk nieuwe therapeutische opties voor reumatoïde artritis.

Referenties

1. Rath HC, Herfarth HH, Ikeda JS, Grenther WB, Hamm TE Jr, Balish E, et al. Normal luminal bacteria, especially *Bacteroides* species, mediate chronic colitis, gastritis, and arthritis in HLA-B27/human beta2 microglobulin transgenic rats. *J Clin Invest* 98:945-53.
2. Scher JU, Sczesnak A, Longman RS, Segata N, Ubeda C, Bielski C, et al. Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis. *eLife* 2013;2:e01202.

Figuur 2. Muizen gekoloniseerd met *P. copri* (rood; gevoed met *P. copri* in media) werden vergeleken met muizen gekoloniseerd met commensaal *B. thetaiotamicron* (zwart; gevoed met alleen media) na inductie van chemische colitis door zeven dagen expositie aan dextranulfaatsodium (DSS). In figuur 2A wordt het beloop van het lichaamsgewicht, uitgedrukt in percentage van het startgewicht, over een periode van 12 dagen weergegeven. In figuur 2B wordt de histologie van het darmepitheel getoond na 12 dagen expositie aan DSS. In muizen gekoloniseerd met *P. copri* is een grotere epitheliale schade zichtbaar dan in muizen gekoloniseerd met commensaal *B. thetaiotamicron* (gevoed met media).

Bron: Jose U Scher et al. eLife Sciences 2013;2:e01202. 



Vernieuwingen communicatie en website NVMM

J.L. Murk

Op initiatief van dr. Wim Ang en prof. dr. Christina Vandenbroucke-Grauls is eind 2014 de NVMM-projectgroep Communicatie in het leven geroepen. Het doel van deze projectgroep is om het NVMM-bestuur te adviseren over het communicatiebeleid. Een belangrijk aandachtspunt voor de projectgroep is vernieuwing van de website. De projectgroep is begin 2015 actief geworden en bestaat uit dr. Margo Kusters-van Someren (directeur NVMM), dr. Thijs van de Laar (medisch moleculair microbioloog bij Sanquin Amsterdam), dr. Jerome Lo Ten Foe (arts-microbioloog in Universitair Medisch Centrum Groningen), dr. Guy Oudhuis (arts-microbioloog in Maastricht Universitair Medisch Centrum) en ondergetekende. Inmiddels is prof. dr. Andreas Voss als NVMM-bestuurslid met portefeuille communicatie betrokken geraakt bij de projectgroep.

In deze eerste blog willen we de NVMM-leden informeren over de plannen en vorderingen van de projectgroep. De NVMM is een vereniging met ongeveer twintig actieve commissies en werkgroepen en ongeveer 700 leden. De leden van de projectgroep zijn van mening dat het communicatiebeleid van de NVMM zich in eerste instantie moet richten op: 1. het toegankelijk en zichtbaar maken van verenigingsinformatie (informatie binnen handbereik), 2. het delen van informatie toegespitst op de specifieke interesses per lid (gepersonaliseerde informatie), 3. het zichtbaar en vindbaar maken van de leden en hun expertise, 4. het stimuleren van verbindingen tussen leden onderling en tussen leden en de vereniging en 5. het faciliteren van kennisoverdracht op vakinhoudelijk vlak. Om bovenstaande doelstellingen te realiseren hebben we voorgesteld om de website van de NVMM als eerste aan te pakken. Verbetering van de toegankelijkheid van

verenigingsinformatie kan worden gerealiseerd door de website 'mobile friendly' te maken, zodat de website kan worden geraadpleegd vanaf de smartphone of tablet. De toegankelijkheid kan extra verbeterd worden wanneer de gebruiker door middel van cookies ingelogd kan blijven op de website. Omdat de programmeertaal onder de huidige website sterk verouderd is, is ontwerp van een volledig nieuwe website noodzakelijk. Dat geeft ook de gelegenheid om de lay-out en structuur opnieuw in te richten en aan te passen aan de wensen van deze tijd.

We zijn van mening dat nieuwe inrichting van de ledenlijst de verbinding tussen leden een sterke impuls kan geven. Op de smartphone zou de ledenlijst binnen een paar stappen beschikbaar moeten zijn en het mogelijk maken om een collega (met gezochte expertise) te vinden en meteen te bellen of contacteren. De zichtbaarheid van leden kan sterk verbeterd worden als de leden hun profiel verbeteren of koppelen aan een bestaand profiel (zoals LinkedIn, Researchgate of anderen). De verbinding van leden met de vereniging kan verbeterd worden wanneer de mogelijkheid bestaat om items van de verenigingsagenda te synchroniseren met de werkgenda.

Bovengenoemde suggesties zijn besproken in het NVMM-bestuur en werden met enthousiasme ontvangen. Er wordt momenteel onderhandeld met diverse ICT-bedrijven om de voorgenomen verbeteringen uit te voeren. De vorderingen brengen we graag onder de aandacht in een volgende blog.

Dr. Jean-Luc Murk, arts-microbioloog / viroloog UMCU
Afdelingshoofd respiratoire en enterale virologie RIVM,
e-mail: j.murk@umcutrecht.nl

Referenties behorend bij pag. 118, 'Van de redactie':

1. Su LF, Kidd BA, Han A, Kotzin JJ, Davis MM. Virus-specific CD4(+) memory-phenotype T cells are abundant in unexposed adults. *Immunity*. 2013;38:373-83.
2. Sefik E, Geva-Zatorsky N, Oh S, Konnikova L, Zemmour D, McGuire AM, et al. Mucosal immunology. Individual intestinal symbionts induce a distinct population of RORγ⁺ regulatory T cells. *Science*. 2015;349:993-7.
3. Chu H, Mazmanian SK. Innate immune recognition of the microbiota promotes host-microbial symbiosis. *Nat Immunol*. 2013;14:668-75.
4. Rijkers GT, Bengmark S, Enck P, Haller D, Herz U, Kalliomaki M, Kudo S, et al. Guidance for substantiating the evidence for beneficial effects of probiotics: current status and recommendations for future research. *J Nutr*. 2010;140:671S-6S.
5. Cohen IR. Activation of benign autoimmunity as both tumor and autoimmune disease immunotherapy: a comprehensive review. *J Autoimmun*. 2014;54:112-7.

Abstracts Najaarsvergadering NVMM / VIZ 2015

Advances in diagnostics of pneumonia: ...phenotypic to genotypic

A.C.M. Kroes

Dept. of Medical Microbiology, Leiden University Medical Center, Leiden, The Netherlands.

Lower respiratory tract infections, including pneumonia, may cause severe and even fatal clinical disease. There is a great diversity with regard to causative pathogens and a need for a rapid and accurate diagnosis. Patient characteristics and clinical signs may be helpful in determining the most likely cause but in general clinical algorithms based on such information are insufficiently reliable in individual cases. In particular, there is a wide array of relatively rare causes that are often initially overlooked in current diagnostic strategies. Notable examples include all so-called agents of 'atypical pneumonia'. Classical phenotypic diagnostic approaches, like gram stains, direct immunofluorescence and bacterial culture have limitations for most of the less common causes, which may therefore actually be less uncommon than assumed. This applies to all viral causes of lower respiratory tract infections and any conditions in which more than a single pathogen plays a role. The use of genotypic ('molecular') approaches is of great value in the accurate diagnosis of pneumonia, as these are universally applicable and highly sensitive. Current molecular diagnostics have not yet been able to replace phenotypic approaches, which is due to several restrictions. First, any target to be diagnosed must be defined beforehand precisely, to allow detection by primer-directed amplification and probe hybridisation. In view of the wide array of potential causes, this leads to the development of extensive so-called multiplex assays. For viral and other 'atypical' causes alone dozens of different assays must be combined. The second restriction of current molecular methods lies in the role of many commensal bacteria causing pneumonia. This implies that not just the presence of a potential pathogen is sufficient to make a diagnosis, but the whole quantitative pattern of species distribution is required to obtain insight into the actual cause of the disease. New genotypic approaches may well overcome both of these restrictions. This concerns the low cost availability of *massive parallel* and *single molecule* nucleic acid sequencing techniques, which are the most important representatives of what is called '*next generation sequencing* (NGS)'. Essentially, this approach would enable a complete and unbiased diagnostic result on the presence and quantity of causal pathogens of any category. In addition, it would also immediately provide a more detailed view, in terms of subtypes, clinically relevant properties and epidemiologic information. The main obstacles for NGS-based diagnostics as a universal and definitive diagnostic tool are in the rapid interpretation of a large amount of data and the generation of these results in a clinically relevant time frame. The development of interpreting pipelines constitutes a broad international challenge, for which several initiatives are currently taken. The time constraints of microbiological diagnosis are different from applications in genetics and pathology and not all sequencing platforms may be suitable for this purpose. However, no principal limitations exist with regard to single day or overnight completion of such an analysis, in particular with single molecule assays. Promising first experiences of the application of NGS in the frequent and highly clinically relevant problem of pneumonia already demonstrate the importance of a broad genotypic approach in medical microbiology in general. These constitute an important step in the presumably long and complicated transition process to the use of these new diagnostic possibilities.

Chronisch gebruik van azitromycine ter preventie van COPD exacerbaties

M. van der Eerden, Longarts Erasmus MC

In the natural course of COPD, exacerbations are important events influencing outcome. They cause a more rapid decline in lung function, worsening of the quality of life and increased mortality. Therefore, prevention of exacerbations is a major goal in the management of COPD patients. Pharmacological and non-pharmacological interventions are available in order to reduce exacerbation frequency. Inhaled bronchodilators clearly have a role in the prevention of COPD exacerbations, as do long acting antimuscarinic agents (LAMAs) and long acting β agonists (LABAs). Furthermore it was found that inhaled corticosteroid-LABA combination inhalers significantly reduced COPD exacerbations when compared with placebo, but also when compared with LABA alone. Non-pharmacological strategies include influenza vaccination, self-management programs, pulmonary rehabilitation and lung volume reduction surgery (LVRS). Despite above strategies to reduce exacerbations of COPD, there is still a subgroup of COPD patients who are experiencing exacerbations of COPD. Therefore, there is a need to generate alternatives to prevent exacerbations in this distinct subgroup of patients. Macrolide antibiotics may be an alternative therapy in this type of patients. There have been three main prospective double-blind placebo-controlled studies performed to determine whether regular therapy with macrolides reduced exacerbation frequency. In the first study a total of 109 outpatients were randomized to receive 250 mg erythromycin or placebo twice daily over 12 months. The main result was a significant difference in median exacerbation frequency in one year of 2 in the placebo group versus 1 in the erythromycin group ($p = 0.006$). Furthermore, the time to the first exacerbation was significantly longer in the macrolide arm compared with the placebo arm (271 vs. 89 days). In the second study a total of 1142 patients were randomly assigned to receive azithromycin at a dose of 250 mg daily or placebo for 12 months in addition to usual care. The median time to first exacerbation was 266 days (95 per cent CI, 227-313) among participants receiving azithromycin, as compared with 174 days (95 per cent CI, 143-215) among participants receiving placebo ($p < 0.001$). In contrary to the two previous studies the third study included COPD patients with the frequent exacerbator phenotype (3 or more exacerbations in the previous year). 92 patients were randomly assigned to the azithromycin group ($n = 47$) or the placebo group ($n = 45$). The median time to first exacerbation was 59 days (95 per cent CI 31-87) in the placebo group and 130 days (28-232) in the azithromycin group ($p = 0.001$). There was also a significant reduction of exacerbations in favor of azithromycin. To conclude: Macrolides can be used as maintenance therapy in COPD patients, preferably with 3 or more exacerbations in the previous year. Treatment should only be considered in patients in whom other contributing factors have been optimally managed and maximum therapy (pharmacological and non-pharmacological) has been used. Azithromycin should be the drug of choice with a dose of 500 mg 3 times a week and a duration of treatment of 1 year, pending the results of future studies. However, concerns can be made about the development of macrolide resistance in these patients. It has been shown that macrolide resistance develops in response to macrolide antibiotic exposure. Since the introduction of long-acting macrolides, such as azithromycin, macrolide resistance rates are increasing in the United

States and Europe. Another drawback might be the development of ototoxicity, cardiac toxicity, and drug interactions, which are the three major categories of adverse effects that may be anticipated with long-term treatment with azithromycin.

Evaluation of the Lumipulse treponemal antibody test for the determination of anti-treponemal antibodies

C.W. Ang, K. Rensing, S. Lajmir

Department of Medical Microbiology and Infection Control VUMC Amsterdam, The Netherlands

Many laboratories use immunoblot with recombinant antigens such as TpN15, TpN17 and TpN47 or TPPA to confirm positive treponemal antibody screening results. The question of the current study was if confirmation of positive screening results could be done with another assay using the same recombinant antigens. Therefore we used samples that were selected on the basis of the Abbott Architect with a special focus on low signal in the Architect. We confirmed positive results with the immunoblot and TPPA and tested all samples with the Lumipulse. 76 samples. Based on the results of immunoblot and TPPA confirmation, samples were categorized as 1) treponemal antibodies, $n = 18$, 2) inconclusive (any discordant result in TPPA or blot) $n = 16$, 3) no treponemal antibodies $n = 42$. 17/18 patients in group 1 were positive in the Lumipulse. The only patient with a negative result had a Lumipulse value just below the cut-off. A follow-up sample was negative in the Architect. 6/16 patients with discordant results in immunoblot or TPPA were Lumipulse positive. Architect values in these six patients did not differ from the other 10. All these 10 Lumipulse negative patients had an inconclusive immunoblot. All patients in group 3 were negative in the Lumipulse. We conclude that there is a good correlation between the results from our current algorithm with Architect, TPPA and immunoblot with the Lumipulse results. Our results demonstrate that confirmation of treponemal tests can be performed with assays using the same antigens and detection system.

Screening voor BRMO Enterobacteriaceae in ziekenhuizen, vissen we bewust in de verkeerde vijver?

M. Molenaar¹, R.R. Jansen²

¹Afdeling infectie preventie, ²Afdeling microbiologie Onze Lieve Vrouwe Gasthuis

In het kader van de BRMO-richtlijn van de WIP, zijn er 2 redenen om naar BRMO Enterobacteriaceae te screenen: aanwezigheid van de patient in een buitenlands ziekenhuis (≤ 24 uur de afgelopen 2 maanden), danwel overname van een patiënt die recent verpleegd werd op een afdeling van een ander Nederlands ziekenhuis waar een BRMO-uitbraak heerst. Binnen het OLVG voerden wij een prospectief cohortonderzoek uit naar de prevalentie van BRMO Enterobacteriaceae onder mensen zonder klassieke WIP-risicofactoren. Naast een vragenlijst werd er een rectumuitstrijk afgenomen, die verwerkt werd volgens de "HRMO-guideline" van de NVMM. Voorts werden twee chromogene agars met elkaar vergeleken tijdens de duur van de studie en werd de meerwaarde van een aankweek onderzocht.

Bij 21 van de 200 geïncludeerde patiënten werd BRMO Enterobacteriaceae gevonden (12x ESBL, 6x aminoglycoside & ciprofloxacin resistentie en 4x een combinatie van beide resistentietypes). Vergelijking tussen de twee chromoagars voor ESBL vertoonde geen significante verschillen (EbSA; 13/200 vs. ChromID[®]ESBL 14/200). Beide agars misten dus respectievelijk drie en twee maal een ESBL. De aankweek gaf geen extra BRMO's. Analyse van risicofactoren toonde aan dat bezoek aan het buitenland (zonder opname in een ziekenhuis), danwel het onder behandeling zijn van een MDL-arts, een verhoogd risico had op BRMO dragerschap (beide; OR=3.6). Concluderend: 10,5 procent van de patiënten (zonder WIP risicofactoren) was drager van een BRMO Enterobacteriaceae. ESBL dragerschap is zowel in onze, als in andere studies, geassocieerd met buitenland bezoek zonder ziekenhuisopname. Voor zover wij weten screenen de meeste ziekenhuizen niet op deze indicatie.

Vissen we bewust in de verkeerde vijver of zien we ESBL- danwel aminoglycoside & ciprofloxacin resistente Enterobacteriaceae in het kader van BRMO-screening alleen als bijvangst?

Performance of AmpC-agar plates for rapid detection of plasmidial AmpC producing Enterobacteriaceae

K.L. Rensing¹, K. van Dijk¹, E.A. Reuland¹, J.A. Kluytmans³, C.M. Vandembroucke-Grauls¹, N. al Naiemi²

¹Medical Microbiology and Infection Control, VU University Medical Center, Amsterdam, the Netherlands

²Laboratory for Medical Microbiology and Public Health, Hengelo, the Netherlands; Microbiology and Infection Control, Ziekenhuisgroep Twente, Almelo, Amsterdam, the Netherlands, ³Department of Medical Microbiology and Infection Control, Amphia Hospital, Breda, The Netherlands.

The prevalence of plasmid-mediated AmpC (pAmpC) β -lactamase producing bacteria is increasing. This may represent a new threat, since plasmid-encoded β -lactamases easily transfer between species and can cause nosocomial outbreaks. Rapid detection of pAmpC producing bacteria is important for prompt start of hygiene measures and adequate therapy. We developed screening agar plates for rapid detection of pAmpC and tested the performance using 32 bacterial isolates of group I Enterobacteriaceae with pAmpC and 40 isolates of group I Enterobacteriaceae without pAmpC, as confirmed by PCR. We compared CLED and MacConkey agar plates. Each agar plate consisted of two parts that contained both vancomycine and cefoxitin. Additionally, one part contained ceftazidim and the other part cefotaxim. Both sides of the screening agar plates were inoculated with 1 μ L (a standard loopful) of a 0,5McF bacterial suspension. Bacterial growth was examined after overnight incubation at 37°C. Twenty out of 32 isolates with pAmpC grew on the CLED agar plate and 30 out of 32 isolates with pAmpC grew on the MacConkey agar plate. The CLED agar plate showed a sensitivity of 63 per cent and a specificity of 85 per cent, whereas the MacConkey agar plate showed a sensitivity of 94 per cent and a specificity of 90 per cent. Based on these data we conclude that the MacConkey agar may be an appropriate screening tool for the rapid detection of pAmpC. Test performance in clinical samples is currently ongoing.

Performance of a new screening agar plate for rapid detection of carbapenemase producing Enterobacteriaceae

K.L. Rensing¹, K. van Dijk¹, E.A. Reuland¹, M. van Kerckhoven², C.M. Vandembroucke-Grauls¹, N. al Naiemi²

¹Medical Microbiology and Infection Control, VU University Medical Center, Amsterdam, the Netherlands

²Laboratory for Medical Microbiology and Public Health, Hengelo, the Netherlands; Microbiology and Infection Control, Ziekenhuisgroep Twente, Almelo, Amsterdam, the Netherlands

The prevalence of carbapenemase-producing bacteria is increasing worldwide. Rapid detection of these bacteria is important for prevention of nosocomial spread and initiation of appropriate therapy. The level of resistance of carbapenemase producing bacteria to carbapenems may vary significantly, making their detection difficult. To facilitate rapid detection of carbapenemase-producing bacteria we developed two different screening agar plates: A CLED agar plate and a MacConkey agar plate, both containing vancomycine, cloxacilline and ertapenem. The performance of these agar plates was tested using 87 carbapenemase negative and 58 carbapenemase positive Enterobacteriaceae, as confirmed by PCR. Agar plates were inoculated with 1 μ L (a standard loopful) of a 0,5McF bacterial suspension. Bacterial growth was examined after overnight incubation at 37°C. Fifty-five out of 58 carbapenemase positive isolates grew on the CLED agar plate and all of 58 carbapenemase positive isolates grew on the MacConkey agar plate. The CLED agar plate showed a sensitivity of 95 per cent and a specificity of 98 per cent, whereas the MacConkey agar plate showed a sensitivity of 100 per cent and a specificity of 90 per cent.

This study shows that the MacConkey agar may be an appropriate screening tool for the rapid detection of carbapenemase producing bacteria. Further study is needed to evaluate the test performance in clinical samples.

Molecular analysis of Heteroresistance to Colistin in ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* after the Introduction of Selective Digestive Tract Decontamination

I. Halaby¹, N. al Naiemi¹, M.R.C. Rogers², D.J. Doorduyn², W. van Schaik², E. Kucukkose¹, A.G.M. van der Zanden¹, C. M. J. E. Vandenbroucke-Grauls³

¹Laboratory for Medical Microbiology and Public Health, Hengelo, ²Department of Medical Microbiology, University Medical Center Utrecht, ³Department of Medical Microbiology and Infection Control, VU University Medical center, Amsterdam

Introduction: Colistin resistance among extended-spectrum beta-lactamase-producing *K. pneumoniae* (ESBL-Kp) isolates was found to emerge after the introduction of Selective Digestive Tract Decontamination (SDD) in an Intensive Care Unit (AAC 2013;57:3224-9). Population analysis profiles (PAP) revealed colistin heteroresistance in these clinical isolates initially considered colistin-susceptible based on MICs. (Halaby et al. ePoster ECCMID 2015). In this study, we describe the results of molecular characterization through whole genome sequencing (WGS) of the resistance determinants in these isolates.

Methods: The genomes of 13 *K. pneumoniae* strains that were isolated from ICU patients treated with colistin as part of SDD were sequenced on the Illumina MiSeq system. Ten of the thirteen genomes were of paired colistin-susceptible strains, and colistin-(hetero)resistant *K. pneumoniae* strains that grew after exposure of these susceptible strains to colistin.

Results: Phylogenetic analysis of the core genomes of the strains indicate that 12 of 13 strains were closely related, suggesting transmission of a specific *K. pneumoniae* clone on the ICU. In the 6 heteroresistant isolates, mutations in the PhoQ was found in only one, and *mgrB* in 3 other isolates. In the remaining two resistant isolates, other SNPs were found.

Conclusion: In subpopulations of 6 colistin-resistant ESBL-Kp isolates, mutations in the *PhoQ* and *mgrB* were found in 4 isolates. The role of the other SNP's that were found in the remaining 2 isolates is unclear and should be further investigated.

Positieve klinische en financiële impact van infectiepreventie met betrekking tot nosocomiale uitbraken

J.W.H. Dik¹, M. Lokate¹, A.G. Dinkelacker^{1,2}, R. Hendrix^{1,3}, J.R. Lo-Ten-Foe¹, M.J. Postma^{4,5}, B. Sinha¹, A.W. Friedrich¹

¹Medische Microbiologie, Rijksuniversiteit Groningen, Universitair Medisch Centrum Groningen, Groningen, Nederland;

²Institut für Mikrobiologie und Infektionsmedizin (IMIT), Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Duitsland; ³Certe Laboratorium voor Infectieziekten, Groningen, Nederland;

⁴Farmacie, Unit PharmacoEpidemiology & PharmacoEconomics, Rijksuniversiteit Groningen, Groningen, Nederland; ⁵Science in Healthy Aging & healthcARE (SHARE), Universitair Medisch Centrum Groningen, Groningen, Nederland

Infectiepreventie is een essentieel onderdeel van ziekenhuiszorg en draagt bij aan een veilige omgeving voor patiënten. De komende jaren blijft het noodzakelijk te investeren in infectiepreventie om zo de risico's van de wereldwijde antibioticaresistentieproblematiek af te dekken. Echter, zeker in tijden van bezuinigen is het belangrijk om ook op financieel niveau te evalueren. Deze studie is opgezet om de financiële impact van infectiepreventie op uitbraakkosten en -risico's in een UMC te onderzoeken door middel van een retrospectieve incrementele kostenanalyse. Op basis van het jaarlijkse incrementeel verschil in incidentie van risico-organismen die de potentie hebben uitbraken te veroorzaken (MRSA; ESBL en/of KPC *K. pneumoniae*;

multi-resistente *P. aeruginosa*; VRE; *S. marcescens*; *A. baumannii*; norovirus) tussen 2007 en 2014, is het aantal te verwachten uitbraakpatiënten berekend. Eveneens is de prijs per uitbraakpatiënt per uitbraakdag berekend. Afgezet tegen de jaarlijkse incrementele kostenstijging voor infectiepreventie en de daadwerkelijk gevonden uitbraakpatiënten levert dit een jaarlijkse return on investment (ROI) voor infectiepreventie investeringen op. Gedurende de acht jaar was er een stijgende incidentie van (hoog)risico-organismen. Er was eveneens een stijging in infectiepreventiepersoneel en een stijging in het gebruik van infectiepreventiemiddelen (handalcohol, disposable kleding, surveillancetekenen), leidend tot extra kosten. Het aantal uitbraakpatiënten bleef in acht jaar stabiel. Een uitbraakpatiënt kostte het ziekenhuis gemiddeld €525 extra per uitbraakdag. De bespaarde kosten van de voorkómen uitbraakpatiënten afgezet tegen de jaarlijkse stijging in kosten gaf een zeer positieve gemiddelde ROI van 6,26. Noodzakelijke jaarlijkse investeringen in infectiepreventie, welke zeer waarschijnlijk uitbraakpatiënten voorkómen, worden ruim terugverdiend met de besparingen dankzij minder uitbraakkosten.

MERS-CoV; wat is er gebeurd?

C. Reusken

Department Viroscience, ErasmusMC, Rotterdam, the Netherlands

Het Middle East Respiratory Syndrome coronavirus (MERS-CoV) is een coronavirus dat voor het eerst geïdentificeerd is bij patiënten met ernstige respiratoire klachten in het Midden-Oosten in 2012. In september 2015 waren er bij de WHO 1.599 bevestigde gevallen waaronder 574 doden gerapporteerd. Het klinisch spectrum van MERS-CoV infecties varieert van asymptomatische infectie, via milde respiratoire klachten tot ernstige pneumonie en acuut respiratoire distress syndroom (ARDS). Ouderdom, co-morbiditeit en verminderde immuniteit zijn risicofactoren voor infectie met MERS-CoV en een ernstig verloop van het ziektebeeld. Gebaseerd op registratie van laboratoriumbevestigde gevallen ligt de mortaliteit rond 36 procent. Mens-op-mens overdracht lijkt inefficiënt en vindt hoofdzakelijk plaats in huiselijke kring en ziekenhuissetting. Alle bevestigde casussen hebben een directe of indirecte epidemiologische link met het Midden-Oosten. MERS-CoV is endemisch in dromedarispopulaties in het Midden-Oosten en Afrika. Dromedarissen en producten van dromedarissen (melk, vlees, urine) zijn hoogstwaarschijnlijk de primaire bron voor zoönotische transmissie van het virus. In cohorten van mensen met dagelijks, intensief contact met dromedarissen zijn antistoffen tegen MERS-CoV aangetroffen in tegenstelling tot in cohorten zonder dromedariscontact. In juni 2015 vond voor het eerst een grote uitbraak plaats buiten het Arabische Schiereiland na introductie van het virus door één reiziger die na een bezoek aan het Midden-Oosten terugkeerde in Zuid-Korea, leidend tot 186 bevestigde gevallen, 36 doden en 16.693 mensen in quarantaine. Deze uitbraak in Zuid-Korea is vergelijkbaar met eerdere ziekenhuisgerelateerde uitbraken in het Midden-Oosten waarbij gebrekkige infectieziektenpreventiemaatregelen en overvolle ziekenhuizen de belangrijkste rol spelen. Zeer recente moleculaire epidemiologische data wijzen op onopgemerkte community transmissie in het Midden-Oosten.

Risk and outcomes of invasive pneumococcal disease in adults with underlying conditions in the post-PCV7 era, the Netherlands

G.H.J. Wagenvoort¹, M.J. Knol², H.E. de Melker², B.J. Vlamincx¹, A. van der Ende³, M.H. Rozenbaum⁴, E.A.M. Sanders⁵

¹Department of Medical Microbiology and Immunology, St. Antonius Hospital, Nieuwegein,

²Centre for Infectious Disease Control Netherlands (CIb), National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, ³Department of Medical Microbiology and the Netherlands Reference Laboratory for Bacterial

Meningitis, Academic Medical Center, Amsterdam, ⁴Pfizer bv., Capelle a/d IJssel, Department of Pharmacy, Unit of PharmacoEpidemiology & PharmacoEconomics (PE2), University of Groningen, Groningen, ⁵Centre for Infectious Disease Control Netherlands (CIb), National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, Department of Immunology and Infectious diseases, University Medical Center Utrecht, Wilhelmina children's hospital, Utrecht

We investigated the risk and outcomes of IPD in adults with underlying conditions in the post-PCV7 era. IPD data from 2008-2012 was obtained from the national pneumococcal surveillance system, covering 25 per cent of the Dutch population. Population estimates of underlying conditions were derived from the primary care data (2012). IPD incidence in adults with immunocompromising conditions (high risk group) and non-immunocompromising comorbidities (medium risk group) were compared to the 'normal risk group' without diagnosed comorbidities. Case-fatality and ICU admission in the different risk groups was analysed by logistic regression. Serotype specific propensities to affect high risk group IPD patients were calculated. Adults with a high risk condition have a 18-fold (95 per cent CI 15.6-21.2) and 3-fold (95 per cent CI 2.6-3.9) higher risk for IPD at age 18-64 years and 65 years and older, respectively. In case of a medium risk condition, the risk is 5-fold (95 per cent CI 4.3-5.7) and 2-fold (95 per cent CI 1.9-2.6) higher in age groups 18-64 and ≥ 65 years old. Likewise, IPD patients with a high or medium risk condition have a higher case-fatality (after adjustment for age, odds ratio: 2-fold (95 per cent CI 1.5-3.5) and 1.4-fold (95 per cent CI 1.0-2.1), respectively). Several serotypes (e.g. 6A, 6B, 23A, 23B) are associated with a significantly higher propensity to cause disease in high risk patients. In conclusion, the risk for IPD and death in the post-PCV7 era has remained high in adults and elderly with underlying conditions. Identification of serotypes with a high propensity to affect risk groups can be important for selecting (future) vaccine serotypes.

Homologous recombination signatures in invasive *Streptococcus pneumoniae* indicate emergence of ancient non-vaccine variants

A.J.H. Cremers^{1,2}, W.P. Hanage¹

¹Center for Communicable Disease Dynamics, Harvard T. H. Chan School of Public Health, Boston, Massachusetts 02115, USA; ²Laboratory of Pediatric Infectious Diseases, Radboudumc, 6500HB Nijmegen, The Netherlands

Background. Replacement by non-vaccine serotypes (nVTs) has eroded the benefit of 7-valent conjugated pneumococcal vaccine (PCV7) in preventing Invasive Pneumococcal Disease (IPD). Homologous recombination is an important contributor to pneumococcal variation, generating antigenic diversity and disseminating resistance. By studying recombination events, we investigated whether the upcoming nVT variants were previously circulating, or have recently evolved under vaccine pressure.

Methods. From 349 Dutch IPD patients hospitalized during 5 years before and after the introduction of PCV7 in 2006, the infecting pneumococci were sequenced. Recombination events in the core genome were identified as anomalous concentrations of SNP variation. Divergence dates were assessed by BEAST analyses of recombination-filtered SNP data.

Results. Among 277 pneumococcal strains across 12 sequence clusters footprints of recombination were identified in virtually all IPD core genes (1062/1073). While frequency of recombination varied along the IPD core genome, its distribution of was similar on ancestral and terminal branches ($p=0.2$). Recombination patterns varied across sequence clusters. nVT lineages were distinguished by the presence of long terminal branches ($p=0.006$), suggesting diversification over a long period in which they were not sampled in IPD,

before emergence post vaccine introduction. Although divergence has occurred after the introduction of PCV7, no evidence for such recent recombination was observed. In fact, those nVTs causing IPD post PCV7 more often carried ancestral recombination compared to before (66 per cent vs. 47 per cent; $p=0.012$).

Conclusions. Recombination patterns observed on the core genome of invasive *Streptococcus pneumoniae* suggest that nVTs emerging after PCV7 were ancient rather than recently evolved variants, and diverse rather than clonally expanding.

Patients treated for Lyme neuroborreliosis who report a reduced quality of life have an increased T-cell reactivity against Borrelia specific antigens in their blood

T. van Gorkom^{1,4}, S.U.C. Sankatsing², W. Voet³, K. Kremer⁴, D.W. Notermans⁴, B. Vlaminckx³, S.F.T. Thijsen¹

Departments of ¹Medical Microbiology and Immunology, ²Internal Medicine, ³Neurology, Diaconessenhuis, Utrecht, ⁴Department of Bacteriological and Parasitological Diagnostics, Centre for Infectious Diseases Research, Diagnostics and Screening, Centre for Infectious Disease Control, National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, ⁵Department of Medical Microbiology and Immunology, St Antonius Hospital, Nieuwegein

Despite antibiotic treatment, patients treated for Lyme neuroborreliosis (LNB) often report persisting complaints. We studied the quality of life of treated LNB patients using the RAND-36 questionnaire and a Lyme specific questionnaire for complaints. T-cell responses to *Borrelia* were investigated using an interferon- γ release assay. These characteristics were compared with active LNB patients and healthy individuals (HI). 153/192 (79.7 per cent) HI reported no complaints and were subsequently included in the study. 15/38 (39.5 per cent) treated LNB patients reported no complaints and 23/38 (60.5 per cent) reported a mean of 3.2 ± 1.9 complaints. All ($n=21$) active LNB patients reported a mean of 3.8 ± 2.2 complaints. RAND-36 results showed that treated LNB patients with complaints and active LNB patients experienced a significantly lower quality of life ($P < 0.0005$ and $P 0.002$) compared to HI. Both groups also had significantly higher T-cell reactivity against *Borrelia* specific antigens ($P < 0.0005$ each) compared to HI. No difference in T-cell reactivity against *Borrelia* specific antigens was found between HI and treated LNB patients without complaints ($P 0.05$). Analyzing all study subjects, the number of complaints was associated with an increased T-cell reactivity against *Borrelia* specific antigens (Spearman's correlation coefficient: 0.351; $P < 0.0005$). This association was also found within the treated LNB patient group having complaints (Spearman's correlation coefficient: 0.464; $P 0.026$).

Conclusion: Our study showed a difference in the immune response between treated LNB patients experiencing complaints and those without complaints. An impaired quality of life was associated with an increased T-cell reactivity against *Borrelia* specific antigens.

LymeProspect: een multicentrische prospectieve cohortstudie naar mogelijke oorzaken van persistente symptomen na antibiotische behandeling voor Lyme-borreliose

J. Ursinus^{1,3*}, H.D. Vrijmoeth^{2,3*}, J.W.R. Hovius¹, H.C.P.M. van Weert⁴, L.A.B. Joosten², H. Knoop⁵, W.J.J. Assendelft⁶, B.J. Kullberg², Y.M. Vermeeren⁷, B. van Kooten⁷, M. Zwerink⁷, M.G. Harms³, W. van Pelt³ en C.C. van den Wijngaard³
¹Amsterdam Multidisciplinair Lyme Centrum (AMLC), Academisch Medisch Centrum, Universiteit van Amsterdam, Amsterdam, ²Afdeling Interne Geneeskunde, Radboud universitair medisch centrum, Nijmegen, ³Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Centrum Infectieziektenbestrijding, Bilthoven, ⁴Afdeling

Huisartsgeneeskunde, Academisch Medisch Centrum, Universiteit van Amsterdam, Amsterdam, ⁵Nijmeegs Kenniscentrum Chronische vermoeidheid, Radboud universitair medisch centrum, Nijmegen, ⁶Afdeling Eerstelijngeneeskunde, Radboud universitair medisch centrum, Nijmegen, ⁷Lyme Centrum Apeldoorn, Gelre Ziekenhuizen, Apeldoorn, *Beide auteurs zullen een gelijke bijdrage leveren aan het onderzoek

Jaarlijks wordt in Nederland bij ruim 25.000 mensen de diagnose Lyme-borreliose gesteld. Circa 1000 tot 2500 patiënten melden langdurige klachten, zoals vermoeidheid, artralgieën en cognitieve problemen, ook na aanbevolen antibiotische behandeling. Hoewel deze klachten aanzienlijke maatschappelijke kosten met zich meebrengen is de etiologie nog onvoldoende bekend. In de LymeProspect-studie wordt een reeks van mogelijke oorzaken onderzocht voor het ontstaan van langdurige klachten na behandeling. Het gaat om microbiologische, immunologische, genetische, klinische, epidemiologische, cognitieve en gedragsmatige oorzaken. Dit onderzoek is een samenwerking tussen het RIVM, AMC, Radboudumc en Gelre ziekenhuizen Apeldoorn en loopt tot eind 2018. Circa 2000 patiënten ≥ 18 jaar met een erythema migrans bevestigd door de huisarts, of bewezen danwel waarschijnlijke gedissemineerde Lyme borreliose (zoals Lyme-artritis, Lyme neuroborreliose of acrodermatitis chronica atrophicans), worden geïncubeerd op het moment dat antibiotische behandeling wordt gestart. Voor een groot aantal patiënten vindt inclusie en follow-up plaats via www.tekenradar.nl, de rest neemt deel via de deelnemende Lyme-centra. De follow-up is één jaar waarbij door middel van gestandaardiseerde vragenlijsten wordt beoordeeld welke deelnemers langdurige klachten ontwikkelen. Ook worden cognitieve en gedragsmatige factoren gemeten. Daarnaast vindt bloedafname plaats voor analyse van de cellulaire immuunrespons, PCR op *Borrelia* en andere door teken overdraagbare pathogenen, genexpressie profielen, antibiotica plasmaspiegels en serologie. Een predictiemodel zal worden opgesteld om te kijken wat determinanten en/of mogelijke oorzaken zijn voor het ontstaan van langdurige klachten na behandeling. Dit zal bijdragen aan de kennis over de onderliggende etiologie en zal handvaten geven voor verbetering van preventieve en/of therapeutische strategieën.

The impact of trimethoprim-sulfamethoxazole as *Pneumocystis pneumonia* prophylaxis on the incidence of bacteriuria in renal allograft recipients.

R. Singh¹, S.E. Geerlings², C.J. Hodiament³, M.M. Idu⁴, R.J.M. ten Berge¹, F.J. Bemelman¹
*Departments of*¹*Internal Medicine Division of Nephrology,*
²*Internal Medicine Division of Infectious Diseases,*³*Medical Microbiology,*⁴*Surgery Division of vascular Surgery,*
Academic Medical Center, the Netherlands

Bacteriuria is the most common infectious complication after renal transplantation. Low dose trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP-SMX) is administered as *Pneumocystis jiroveci* pneumonia (PJP) prophylaxis. The aim of this study is to evaluate the influence of TMP-SMX as PJP prophylaxis on the occurrence of bacteriuria and its impact on antimicrobial resistance pattern. We have conducted a retrospective cohort study in adult renal allograft recipients with one year follow-up after transplantation. We compared the group that received TMP-SMX as PJP prophylaxis to the group that did not receive it. In total, 343 renal allograft recipients were analysed, of whom 212 (61.8 per cent) received TMP-SMX as PJP prophylaxis. In this study, 69 (20.1 per cent) renal allograft recipients developed UTI, whereas 63 (18.4 per cent) did only develop ASB without any UTI episodes. The remaining 211 (61.5 per cent) renal allograft recipients did not develop any bacteriuria at all. Multivariable Cox proportional regression analysis showed that TMP-SMX as PJP prophylaxis was not associated with reduced prevalence of ASB (Hazard ratio

(HR)=1.52, 95%CI=0.79-2.95, p=0.212), nor with reduced incidence of UTI (HR=1.49, 95%CI=0.85-2.62, p=0.166). Among the group receiving TMP-SMX as PJP prophylaxis there was an increase in both amoxicillin (86 per cent versus 70 per cent) and TMP-SMX (89 per cent versus 48 per cent) resistance among the causative microorganisms which already appeared within the first 30 days after TMP-SMX exposure. The majority of the bacteriuria was caused by *Escherichia coli* (40.6 per cent) and *Enterococcus* spp. (22.2 per cent) Among renal allograft recipients, administration of TMP-SMX as PJP prophylaxis does not prevent ASB nor UTI, however it is associated with increased amoxicillin and TMP-SMX resistance.

Risk Factors for Urosepsis After Renal Transplantation and its Impact on the Renal Allograft Function

R. Singh¹, S.E. Geerlings², R.J.M. ten Berge¹, F.J. Bemelman¹
*Division of Nephrology.*²*Division of Infectious Diseases,*
Department of Internal Medicine. Academic Medical Center,
the Netherlands

Along with urinary tract infection (UTI), bacteraemia (urosepsis) may occur. The aim of this study is to evaluate the risk factors of urosepsis and its impact on the renal allograft function.

Retrospective cohort study with adult renal allograft recipient, who had 1 year follow-up after transplantation. Bacteriuria was defined as positive urine culture. Urosepsis was defined as bacteriuria and positive blood culture with same pathogen. Asymptomatic bacteriuria (ASB) was defined as bacteriuria without symptoms of the urinary tract, fever/malaise. Bacteriuria with these symptoms was defined as UTI. We compared the group with urosepsis to the group without any bacteriuria at all.

In total 431 recipients were analysed. Within 1 year after transplantation; 24 (5.6 per cent) had urosepsis and 298 (69.1 per cent) did not develop any episode of bacteriuria at all. 61 (14.2 per cent) had UTI, 48 (11.1 per cent) had only ASB. Multivariable analysis showed that only an indwelling urological catheter was associated with the development of urosepsis with OR 13.40 (95%CI=4.43-40.55, p<0.001). Multivariable linear analysis of the renal allograft function at 1 year after transplantation showed significant interaction between urosepsis and acute rejection. In the group without rejection, urosepsis did not impair renal allograft function 1 year after transplantation. However, having experienced both urosepsis and acute rejection significantly resulted in even greater impairment of the renal allograft function than rejection alone.

The presence of a urological catheter is the greatest risk factor for urosepsis. Having experienced both, acute rejection and urosepsis, is strongly associated with impaired renal allograft function, but urosepsis alone is not.

Data is reeds eerder gepresenteerd in een poster tijdens American Society of Nephrology (ASN) 2014 in Philadelphia USA.

2 september 2015 X. Yan

Population structure of Staphylococcus aureus in China

Promotores: prof. dr. H.J. Grundmann en
prof. dr. J.M. van Dijk

UMC Groningen, afd. Medische Microbiologie

10 september 2015 L. Hussaarts

**Immune modulation by schistosomes: mechanisms of
T helper 2 polarization and implications for metabolic
disorders**

Promotor: prof. dr. M. Yazdanbakhsh

Co-promotor: dr. B.G.A. Guigas

LUMC Leiden, afd. Parasitologie

23 september 2015 F. Hamid

**Helminth infections, socio-economic status and allergies
in Indonesia**

Promotores: prof. dr. M. Yazdanbakhsh en prof. dr. R. van Ree

Co-promotor: dr. E. Sartono

LUMC Leiden, afd. Parasitologie; Universiteit van

Amsterdam, afd. Experimentele Immunologie

23 september 2015 J. Bastiaans

**A novel role for Coagulation Proteins in the development
of Proliferative Vitreoretinopathy**

Promotores: prof. dr. P.M. van Hagen en

prof. dr. J.C. van Meurs (emeritus)

Co-promotor: dr. W.A. Dik

Erasmus MC Rotterdam, afd. Immunologie; afd.

Oogheelkunde

7 oktober 2015 L.B Baldeón Rojas

**Inflammatory Aspects of Type 2 Diabetes in the
Andean Region**

Promotor: prof. dr. H.A. Drexhage

Co-promotor: dr. P.J.M. Leenen

Erasmus MC Rotterdam, afd. Immunologie

7 oktober 2015 F.E. Sempértegui Ontaneda

**Nutrition, Immunity, Infection and Metabolic
Health in Ecuador**

Promotores: prof. dr. H.A. Drexhage en

prof. dr. O.H. Franco Duran

Erasmus MC Rotterdam, afd. Immunologie;

afd. Epidemiologie

8 oktober 2015 M. Jonges

**Exploring the use of influenza virus sequence diversity for
the identification and characterization of transmission
events**

Promotor: prof. dr. M.P.G. Koopmans

Co-promotor: dr. A. Meijer

Erasmus MC, Rotterdam, afd. Viroscience

26 oktober 2015 J.C. Flipse

Molecular mechanisms of Dengue virus infection

Promotor: prof. dr. J.M. Smit

UMC Groningen, afd. Medische Microbiologie

2 november 2015 T. Schoffelen

The immune response in Q Fever

Promotores: prof. dr. M.G. Netea en

prof. dr. J.W.M. van der Meer (emeritus)

Co-promotores: dr. ir. M. van Deuren en dr. T. Sprong

UMC St Radboud Nijmegen, afd. Interne Geneeskunde

10 november 2015 D. van den Heuvel

**The Immune System Out of Shape? Shaping of adaptive
immunity by persistent viral infections in young children**

Promotor: prof. dr. J.J.M. van Dongen

Co-promotor: dr. M.C. van Zelm

Erasmus MC Rotterdam, afd. Immunologie

11 november 2015 M.B. Rother

**Formation of the Immunoglobulin Repertoire in Precursor-
B-cell Development**

Promotor: prof. dr. J.J.M. van Dongen

Co-promotor: dr. M.C. van Zelm

Erasmus MC Rotterdam, afd. Immunologie

24 november 2015 S.D. Pas

Hepatitis E in the immune-compromised patient

Promotor: prof. dr. A.D.M.E. Osterhaus (emeritus)

Co-promotor: dr. A.A. van der Eijk

Erasmus MC Rotterdam, afd. Viroscience

27 november 2015 M.J. Vanspauwen

**Use of molecular techniques in the diagnosis of respiratory
diseases**

Promotores: prof. dr. C.A.M.V.A. Bruggeman (emeritus) en
prof. dr. E.F.M. Wouters

Co-promotor: dr. C.F.M. Linssen

UMC Maastricht, afd. Medische Microbiologie;

afd. Longziekten