

NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR MEDISCHE MICROBIOLOGIE



DIFICLIR[®]
fidaxomicine

Sustain response. Reduce recurrence.

Bevrijd uw patiënt van
Clostridium difficile...

**NU GVS
VERGOED!**

...minimaliseer recidieven met
doelgerichte therapie!

 **astellas**
Leading Light for Life

Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie

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

NVMM-secretariaat

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

Hoofdredactie

Dr. G.I. Andriess, mw. dr. E. Heikens

Redactie

Mw. dr. I.A.J.M. Bakker-Woudenberg,
mw. drs. M. Jager, dr. J.A. Kaan,
dr. J.S. Kalpoe, B. Meek, dr. M. Van Rijn,
dr. H.F.L. Wertheim, R. te Witt

Redactiesecretariaat

Van Zuiden Communications B.V.
Mw. M.S. Kapteyn-Brus
Tel. (0172) 476191, e-mail:
kapteyn@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:
€ 61,- per jaar
Buiten Nederland, in Europa: 85,- per jaar
Losse nummers: 12,50
Opgave abonnementen:
Tel. (0172) 47 61 91



© 2013, 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 gedeponeerd bij de Kamer van Koophandel te Leiden.

ISSN 0929-0176



Inhoud

Van de redactie	89
Transmissieroute	
<i>J.A. Kaan</i>	90
Interview	
Infectiepreventie, BRMO en A-teams. Een gesprek met drie inspecteurs van de IGZ	91
<i>G. Andriess, J.A. Kaan, D. Dresden</i>	
Commentaar	
Als het kalf verdrinken is	95
<i>H.A. Verbrugh</i>	
Artikelen	
Amoxicilline-clavulaanzuurgevoeligheidstesten	96
<i>A. Trouvé, F. Verhaest</i>	
De duur van ESBL-dragerschap	101
<i>S.P. van Mens, A. Troelstra, M.J.M. Bonten</i>	
Recommendations of the NVMM Guideline Laboratory detection of highly resistant microorganisms, 2.0 - MRSA	104
<i>A.T. Bernards, M.J.M. Bonten, J. Cohen Stuart, B. Diederens, W.H.F. Goessens, H. Grundmann, J.A.J.W. Kluytmans, M.F.Q. Kluytmans-van den Bergh, M.A. Leverstein-van Hall, J.W. Mouton, N. al Naiemi, A. Troelstra, C.M.J.E. Vandembroucke-Grauls, M.C. Vos, A. Voss</i>	
Thema: Serologie (1)	
Kinkhoestserologie	107
<i>J.F.P. Schellekens</i>	
Indexserologie: "A tale of two compartments"	113
<i>J.D.F. de Groot-Mijnes, A.M.J. Wensing</i>	
Samenvatting proefschrift 'Chronic Q fever in the Netherlands'	119
<i>L.M. Kampschreur</i>	
Serologiecursus 2013 – Antistof, het verborgen goud	121
<i>J.L. Murk, A. Tholen</i>	
CBG	
Regulatoire aspecten bij de ontwikkeling van antibiotica voor multiresistente bacteriën (1)	122
<i>A. Vollaard, B. Voordouw</i>	
Samenvatting proefschrift	
Host-pathogen interactions in Lyme disease and their application in diagnostics	124
<i>N.D. van Burgel</i>	
Wetenschappelijke Najaarsvergadering NVMM en VIZ	125
Promoties, oraties, afscheidsrede, agenda	126, 127, 129

Foto omslag: Loes van Damme (l.h.vandamme@erasmusmc.nl) en Hans den Boer (j.denboer@erasmusmc.nl)
Erasmus MC, Afdeling Medische Microbiologie & Infectieziekten,
Postbus 2040, 3000 CA, Rotterdam.

Cancidas®

(caspofungin, MSD)

Breed toepasbaar bij

- Invasieve candidiasis
- Invasieve aspergillose*
- Empirische antifungale therapie

Antifungale therapie zonder compromis


- Voor volwassenen én kinderen
- Voor neutropenen én niet-neutropenen
- Goed verdragen¹
- Eenvoudige dosering
- Als add-on DBC volledig vergoed²
- 11 jaar klinische ervaring

Referenties:

* Invasieve aspergillose bij volwassene patienten en kinderen die niet reageren op amfotericine B, toedieningsvormen van amfotericine B met lipiden en/of itraconazol of deze niet verdragen.

1. D.W. Denning: Echinocandin antifungal drugs. *The Lancet* 362: 1142-51, 2003. 2. Bijlage 5 Beleidsregel BR/CU-2076

Raadpleeg de volledige productinformatie alvorens CANCIDAS voor te schrijven

 MSD Merck Sharp & Dohme BV, Postbus 581, 2003 PC Haarlem, Tel. 0800-9999000, email medicalinfo.nl@merck.com, www.msd.nl, www.univadis.nl

**Cancidas®**
(caspofungin, MSD)

Evidence. Experience. Confidence.

VAN DE REDACTIE

Voor u ligt het NTMM dat deze zomer tot stand is gekomen. Dit nummer bevat een aantal artikelen rond het thema 'serologie'. Diverse technische en vakinhoudelijke aspecten van serologische bepalingen zullen in deze thema-artikelen worden besproken. Serologie is niet dood: er zijn veel nieuwe ontwikkelingen en meer mogelijk-



heden dan voorheen. Vanwege het grote aantal bijdragen over serologie heeft de redactie besloten de artikelen te verdelen over twee uitgaven van het NTMM, de nummers 3 en 4. In deze uitgave staan bijdragen over kinkhoest, uveïtis/encefalitis, chronische Q-koorts en een serologie-cursus. Het lezen van deze artikelen zal voor velen van toegevoegde waarde kunnen zijn.

Naast het thema 'serologie' staat het interview met drie inspecteurs van de Inspectie voor de Gezondheidszorg (IGZ) centraal. De redactie vond het zinvol om met de IGZ van gedachten te wisselen over de veelbesproken onderwerpen als BRMO's, A-teams en de OXA-48-uitbraak in Rotterdam. Centraal in het interview staat de rol van de arts-microbioloog in relatie tot de afdelingen Infectiepreventie in de ziekenhuizen. Hierover is het laatste nog niet gezegd: in veel ziekenhuizen is dit nog onderwerp van discussie terwijl de 'buitenwereld' al lang heeft geconcludeerd dat de arts-microbioloog eindverantwoordelijk is. Om de discussie hierover op te starten is een opiniërend stuk van prof. Verbrugh toegevoegd. Reacties op de beide artikelen zijn welkom.

Veel leesplezier!

Gunnar Andriessse

Is de Maldi wel altijd tof?

J.A. Kaan

Telefoon. “U spreekt met het RIVM. We willen u graag melden dat de stam die zes dagen geleden is ingestuurd, waarschijnlijk een *Brucella* is. Nadere specificering volgt nog.”

Ik zoek de bijbehorende gegevens op. Het gaat om een bloedkweekisolaat, dat vijf dagen na afname gegroeid was en niet kon worden gedetermineerd met de gebruikelijke methoden. De stam is toen aan een analyse met de Bruker Maldi-tof onderworpen, hetgeen een goed spectrum opleverde gekoppeld aan de opmerking “geen betrouwbare identificatie”. Vervolgens werd de stam naar het RIVM gestuurd met na zes dagen het telefoontje.

Het blijkt te gaan om een 50-jarige patiënt die al langere tijd klaagde over malaise en verhoogde temperatuur. Patiënt is al ontslagen zonder specifieke behandeling. Ik meld het isolaat aan de internist en dring aan op directe actie en opname voor doxycycline en een infuus met gentamicine.

Ik ga bij de patiënt langs en hij blijkt veel te reizen ook in Afrika; hij heeft bijna twee maanden voorafgaand aan het afnemen van de bloedkweek ongekookte melk gedronken, terwijl hij dacht “moet ik dit eigenlijk wel doen?”

Een aantal analisten en stafleden heeft tussen het moment van positief worden van de bloedkweek en het bekend worden van de determinatie gewerkt met deze categorie 3-stam, zonder bijzondere beschermingsmaatregelen. Enkelens zeggen aan de voedingsbodem geroken te hebben. Er zijn erbij die in verwachting zijn. De eerste neiging is te denken dat het allemaal wel mee zal vallen, maar naarmate je er meer over leest, blijkt dat de gebeurtenis niet zonder gevolgen kan blijven. Er wordt contact opgenomen met de bedrijfsarts; we vinden uit dat de Arbeidsinspectie op straffe van boete moet worden gewaarschuwd. Inmiddels heet die instantie *Inspectie voor Sociale Zaken en Werkgelegenheid*.¹ Wordt iemand ziek dan wordt verzocht dit bij het *Nederlands Centrum voor Beroepsziekten* te melden.² We lezen instructies in de literatuur en leggen lijsten aan met medewerkers die hoog risico (HR, zelf gewerkt met de stam), dan wel laag risico (LR, in de ruimte aanwezig geweest terwijl er gewerkt werd met de stam) hebben gelopen.³ Van alle medewerkers wordt een nulserum afgenomen en de HR-medewerkers wordt een kuur aangeboden van doxycycline en rifampicine voor drie weken. Van hen wordt serologie gedaan in week 6 en

in maand 6. De LR-medewerkers wordt alleen gevraagd klachten (koorts, gewrichtspijn) te melden. Alles wordt gedaan in overleg met de bedrijfsarts, er worden communicatiebulletins gemaakt voor de medewerkers, de Raad van Bestuur wordt ingelicht. Melden bij de Inspectie is ingewikkeld; het verkrijgen van het formulier alleen al neemt ruim een week in beslag.

Iedereen heeft rustig gereageerd, er zijn geen gevolgen te melden tot op heden. Maar wat langzaam duidelijk wordt is dat de zeven dagen tussen het positief worden van de kweek en de RIVM-melding ook één dag had kunnen zijn, wanneer de Maldi-tof was uitgerust met de databank waarin de *Brucella*-patronen zijn opgenomen. Om onduidelijke redenen zijn de patronen van de agentia die met bioterrorisme worden geassocieerd, niet opgenomen in de standaarddatabank.⁴ Dus vraag uw leverancier om de aanvullende databank, om geen onnodige vertraging op te lopen bij het herkennen van de vier ‘terroristen’: *Bacillus anthracis*, *Brucella* spp., *Burkholderia pseudomallei* en *Francisella tularensis*.

En onze patiënt? Na een aantal dagen antibiotica voelt hij zich wat beter en hoeft alleen dagelijks terug te keren voor zijn shot gentamicine. Inmiddels is hij hersteld.

De Transmissieroute wordt voortgezet door Ph. H. Rothbarth, arts-microbioloog in het Rijnland Ziekenhuis, Leiderdorp.

Referenties

1. http://www.inspectieszw.nl/contact/melden_en_aanvragen/meldingbiologischeagentia.aspx
2. <http://www.beroepsziekten.nl/content/brucellose>
3. Reddy S, Manuel R, Sheridan E, et al. Brucellosis in the UK: a risk to laboratory workers? Recommendations for prevention and management of laboratory exposure. *J Clin Pathol.* 2010;63:90-2.
4. Cunningham SA, Patel R. Importance of Using Bruker's Security-Relevant Library for Biotype Identification of *Burkholderia pseudomallei*, *Brucella* Species, and *Francisella tularensis*. *JCM.* 2013;51:1639-40.

Dr. J.A. Kaan, arts-microbioloog, Diakonessenhuis/St Antonius Ziekenhuis Utrecht, e-mail: jkaan@diakhuis.nl.

Infectiepreventie, BRMO en A-teams

Een gesprek met drie inspecteurs van de IGZ

G. Andriesse, J.A. Kaan, D. Dresden

Ziekenhuisinfecties vormen een veelbesproken onderwerp, zeker na de *Klebsiella-OXA48* uitbraak in het Maasstad Ziekenhuis in Rotterdam. Daarnaast is er recentelijk door minister Schippers een beslissing genomen over de verplichting van antibioticateams. Het NTMM is hierover in gesprek gegaan met drie senior inspecteurs van de Inspectie voor de Gezondheidszorg (IGZ): mw. M.A.J. (Marijke) Bilkert-Mooiman, mw. dr. M.F.M. (Merel) Langelaar en dr. G.R. (Robbin) Westerhof.

Sinds begin jaren negentig heeft infectiepreventie een toenemende aandacht van de IGZ. In de beginperiode was de IGZ thematisch actief maar ook bij incidenten. Een bekend voorbeeld hiervan is de aanpak van een hepatitis B uitbraak: in 1999 besmette een Nederlandse chirurg zeker 8 en mogelijk 28 patiënten met het hepatitis B virus.¹ Onder druk van de IGZ werd een veldnorm ter preventie van hepatitis B overdracht door zorgverleners opgesteld en gehandhaafd via thema toezicht. Een ander voorbeeld is de preventie van meticilline-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA). De eerste actieve rol van IGZ bij de bestrijding van MRSA dateert van de MRSA-uitbraak bij de slachtoffers van de vliegcrash in Faro in 1992 gevolgd door thematoezicht hierover. Naast dit initiële incidenttoezicht past de IGZ tegenwoordig ook risicogestuurd systeemtoezicht toe, bestaande uit onder andere enquêtes en aangekondigde of onaangekondigde inspectiebezoeken van zorginstellingen.

Enquêtes

De IGZ moet toezicht houden op de zorginstellingen met als uitgangspunt 26 Nederlandse wetten en een veelvoud aan richtlijnen en veldnormen. Door goed contact te houden met het veld worden keuzes gemaakt en komen onderwerpen voor enquêtes en inspectiebezoeken tot stand die moeten aansluiten bij actuele problematiek in de zorginstellingen. Aan de preventie van zorginfecties wordt een dergelijk groot belang gehecht dat dit een doorlopend traject vormt. Het thematoezicht op Bijzonder Resistent Micro-Organismen (BRMO) is daarbij ingegeven door een toenemende resistentie wereldwijd.

De enquêtes over infectiepreventie worden opgesteld met de veldnormen van onder andere de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie (NVMM), de Werkgroep Infectie Preventie (WIP), de Vereniging voor Hygiëne & Infectiepreventie in de Gezondheidszorg (VHIG), de Stichting Werkgroep Antibiotica Beleid (SWAB) en de Stuurgroep Flexibele Endoscopen Reiniging en Desinfectie (SFERD) als uitgangspunt. De enquêtes worden vooraf ter toetsing voorgelegd aan externe inhoudsdeskundigen en de koepelorganisatie van de beroepsgroep. Hierbij wordt geëvalueerd of in de enquête de juiste vragen zijn gesteld. “Alle ziekenhuizen krijgen een vragenlijst, we bezoeken er 25. De bezochte ziekenhuizen krijgen een individueel rapport met de resultaten van de vragenlijsten en de bevindingen van het bezoek”, vertelt Langelaar. “Soms moeten maatregelen genomen worden als er op punten onvoldoende wordt gescoord.” Het geaggregeerde rapport beschrijft het totaal van alle resultaten van de enquêtes en bezoeken. Alle rapporten worden openbaar gemaakt en staan op de website van de IGZ.

De IGZ werkte voorheen met een systeem waarbij instellingen na het verschijnen van een rapport werden verzocht een plan van aanpak in te dienen, waarvan de IGZ de uitvoering kon controleren. Bilkert: “Dit was voor de IGZ tijdrovend en resulteerde in een onacceptabele vertraging in het verbeterproces in de instellingen. De huidige werkwijze is dat zorginstellingen in reactie op een rapport moeten kunnen aantonen dat tekortkomingen feitelijk zijn opgeheven.”

Het idee voor de recente BRMO-enquête was al ontstaan voorafgaand aan de *Klebsiella-OXA48* uitbraak in het Maasstad Ziekenhuis. De samenloop van beide zaken is dus toeval. “Nu hadden we wel een interessant voorbeeld als basis voor de enquête.”

G. Andriesse, J.A. Kaan, redactieleden NTMM, drs. D. Dresden, arts n.p., medisch bioloog en freelance wetenschapsjournalist

Bilkert benadrukt dat de veldnormen worden vastgesteld door deskundigen in het veld, niet door de IGZ. Westerhof vult aan: “Verantwoorde zorg is een van de belangrijkste factoren waarop wij toezicht houden. Dat wordt ingevuld door richtlijnen en professionele standaarden die zijn opgesteld door de beroepsgroep zelf. De IGZ toetst of de richtlijnen voldoende worden nageleefd. We kunnen aan de beroepsgroep terugkoppelen om de normen aan te passen.” Toch heeft de IGZ incidenteel ook normen opgesteld, zoals het IGZ-bulletin ‘Preventie Iatrogene hepatitis B’ in juli 2002. Bilkert: “Het lijkt of de IGZ hierbij een norm heeft gesteld, maar ook deze norm is door het veld geschreven op uitnodiging van de IGZ. De IGZ maakt in principe geen normen.”

In tegenstelling tot de controle op de kwaliteitsrichtlijnen van de WIP, de Gezondheidsraad en het Landelijk Coördinatie Infectieziektebestrijding (LCI) heeft de IGZ geen bemoeienis met de intercollegiale c.q. interne visitatie van de Kwaliteitsrichtlijnen voor Infectiepreventie in Ziekenhuizen (KRIZ). “De intercollegiale visitatie is voor ons niet openbaar”, vertelt Bilkert. “Dat is een kwestie van de medisch specialisten, de deskundigen infectiepreventie en de KRIZ. Er is wel discussie geweest over de vraag hoe we op andere terreinen inzicht zouden moeten krijgen in de interne visitaties. Maar het is aan de beroepsgroep gelaten om dat te toetsen.”

Soms vormen richtlijnen slapende documenten, waarin taken en verantwoordelijkheden in de praktijk niet echt worden uitgeoefend, maar wel als norm op papier staan. Bilkert legt uit hoe de IGZ daar een beeld van krijgt. “We bekijken tegenwoordig ook hoe de infectiepreventie wordt uitgevoerd door de alle werkers in de gezondheidszorg en kijken dus niet alleen naar de papieren norm. De praktijkresultaten zijn daarbij belangrijker dan het letterlijk volgen van de norm.” Westerhof voegt toe dat de IGZ hierbij de 80/20-regel hanteert. “Als iets in 80% van de ziekenhuizen goed verloopt, moet dat ook gaan gelden voor de overige 20%, ook als dit niet een onderdeel is van een geschreven veldnorm.”

A-teams

Toen Bilkert medio jaren tachtig voor het eerst naar het antibioticabeleid in de ziekenhuizen vroeg tijdens inspectiebezoeken, zei een chirurg op hooghartige toon: “Wij kunnen dat echt zelf wel bepalen. Daar hebben we niemand anders voor nodig.” Deze cultuur veranderde in jaren daarna: de meeste specialisten schrijven alleen nog de eenvoudige antibiotica voor en maken de keuze voor ingewikkelder medicatie eventueel in samenspraak met de arts-microbioloog. Het ontbrak echter aan toetsing of de juiste antibiotica op de juiste manier werden voorgeschreven.

Eind 2011 heeft de IGZ de SWAB uitgenodigd om een visiedocument te schrijven over wat het veld zou moeten

doen tegen de uitdijende resistentie tegen antimicrobiële middelen wereldwijd.³ De IGZ gaat vanaf 1 januari 2014 intensiever toezien op het voorschrijfgedrag van antibiotica en neemt daarbij het SWAB-document als uitgangspunt. Er is echter geen tijd geweest voor de NVMM en de Nederlandse Internisten Vereniging (NIV) om hierop feedback te geven. Langelaar meent dat de SWAB optreedt als vertegenwoordiger van alle betrokken specialismen. Het visiestuk is bovendien mede ondertekend door de hoogleraren infectieziekten en medische microbiologie van de academische centra en wordt onderschreven door de Beraadsgroep Infectie en Immuniteit van de Gezondheidsraad. Daarmee vindt ze dat de IGZ niet voor de troepen uitloopt. “Het visiestuk is nog geen breedgedragen veldnorm. Maar het is wel beleid waar iedereen zich aan moet gaan houden.” Overigens wordt veel van het voorgestelde beleid in het visiedocument momenteel al uitgevoerd op de door SWAB geadviseerde manier. De IGZ gaat vanaf volgend jaar toetsen of de specialisten ermee bezig zijn, maar niet of het beleid al volledig is geïmplementeerd. Langelaar: “Het is *work in progress*. We gaat het niet meteen op dag 1 in zijn volle omvang controleren. Artsen moeten er wel mee bezig zijn, bijvoorbeeld gesprekken hebben met de Raad van Bestuur over hoe dit moet worden ingericht. Of men moet inzicht geven in het antibioticumgebruik in het ziekenhuis en de mate waarin het formularium wordt nageleefd en hoe de naleving wordt verbeterd. Laten zien hoe men met reserve-middelen omgaat in het ziekenhuis. In 2014 willen we een idee krijgen van de *best practice*.” Overigens doet Nederland het in dit opzicht vrij goed in vergelijking met de rest van Europa en de westerse wereld. De vraag is dus waarom de IGZ nu bovenop dit onderwerp springt. “Nederland doet het nu goed, maar de vraag is of we klaar zijn voor de problemen van de toekomst”, antwoordt Langelaar. “De IGZ wil het veld aanzetten om zich op de toekomst voor te bereiden.”

Hoewel de primaire focus van de IGZ op het vlak van infectiepreventie ligt bij het toezicht op ziekenhuizen, is er ook aandacht voor de risico's in de eerste lijn. Langelaar: “We beginnen daar waar de risico's het grootste zijn: de ziekenhuizen. Maar we inspecteren ook de verpleeghuizen.” Ditzelfde geldt voor de antibioticateams (A-teams), die vanaf begin 2014 verplicht zijn in de ziekenhuizen. Het is de bedoeling om dit beleid door te trekken tot in de eerste lijn en verpleeghuizen. “De bulk van het totale antibioticagebruik in Nederland vindt plaats in de eerste lijn”, benoemt ze de rationale achter deze beleidskeuzes. “Maar in de ziekenhuizen zijn meer hoogrisicosituaties en ontstaat gemakkelijker een selectie van resistentie micro-organismen.” Bilkert voegt toe: “Daarbij is het risico op verspreiding veel groter in ziekenhuizen dan in de algemene bevolking. Maar tegenwoordig zijn er ook problemen in verpleeghuizen met verspreiding van resistente micro-organismen.”

Langelaar, die zelf van origine dierenarts is, maakt hierbij de vergelijking met het veterinaire antibioticabeleid. Naar aanleiding van een Gezondheidsraadrapport dat meteen is omarmd door beide ministeries (Landbouw en Volksgezondheid), is het beleid aanzienlijk aangescherpt. “Binnen twee jaar hebben ze een reductie in antibioticagebruik van meer dan 50% bereikt. Inmiddels is er ook een wetswijziging gekomen, waarin onder andere staat dat bij ministeriële regeling diergeneesmiddelen kunnen worden aangewezen die niet zonder voorafgaande kweek en gevoeligheidsbepaling mogen worden toegepast.” Ze vindt de intenties van het document heel mooi, maar de uitwerking vraagt ook om een cultuuromslag. Door de resistentieontwikkeling moet een behandelaar niet alleen het belang van de individuele patiënt dienen, maar hij moet ook de risico’s op een infectie met een resistent micro-organisme voor de patiënt van morgen mede in overweging nemen. In de praktijk bestaan er meerdere barricades om een goed antibioticabeleid op te zetten en te controleren, onder meer gebrek aan tijd bij de betrokken zorgprofessionals en soms gebrekkige ICT voorzieningen.

Daags na het interview verscheen een brief van minister Schippers aan de kamer over onder meer de A-teams.³

De basale hygiënemaatregelen, zoals handhygiëne, zijn belangrijke aandachtspunten die onderbelicht blijven binnen de zorginstellingen. Het is de vraag hoeveel van de problemen kunnen worden opgelost met A-teams. Het huidige thematoezicht BRMO ziet toe op naleving van de algemene en bijzondere voorzorgsmaatregelen

tot op afdelingsniveau, laat Bilkert weten. “Ook de meest basale zaken zijn enorm belangrijk om overdracht van de micro-organismen te beperken. Vandaar dat daar nu aandachtig naar gekeken wordt. Dat kun je uitbouwen met je antibioticabeleid.” Onderzoek van het Erasmus MC⁴ toont dat de handhygiëne vaak te wensen overlaat, ook al hebben de meeste ziekenhuizen protocollen en beleidsmaatregelen voor het verbeteren van de hygiëne. “De IGZ heeft echter niet de gelegenheid om hele dagen op een afdeling de handhygiëne van artsen en verpleegkundigen te controleren. Het daadwerkelijke gedrag is bekend: de ‘compliance’ is niet zo goed”, laat Langelaar weten. “We kijken naar de voorzieningen en de projecten die zorginstellingen hebben ondernomen. En we kunnen tijdens bezoeken aan ziekenhuizen mensen signaleren die geen handhygiëne toepassen, op momenten dat het wel zou moeten.” Tijdens de inspectiebezoeken bemerkt ze grote cultuurverschillen tussen ziekenhuizen. In sommige centra zijn sieraden en lange mouwen nog gemeengoed. “Als je daar naar vraagt, zeggen ze: we hebben geen zin om de hele dag politieagentje te spelen. Het voorbeeldgedrag van voornamelijk artsen is van groot belang.” Westerhof hoort nogal eens het argument dat zorgprofessionals verwachten dat veranderingen en maatregelen van buiten het ziekenhuis moeten komen, terwijl de zorg voor patiëntveiligheid van binnenuit moet komen. De Raad van Bestuur van het ziekenhuis speelt een belangrijke rol: zij dient het beleid uit te dragen naar de gehele organisatie.”



V.l.n.r. Marijke Bilkert, Merel Langelaar, Robin Westerhof

Samenwerking en Maasstad

Een ander punt is de relatie tussen de artsen-microbioloog en de afdelingen voor infectiepreventie. Naar deze samenwerking wordt ook gevraagd in de enquête. In de tweede KRIZ⁵ staat dat de arts-microbioloog daarbij een leidinggevende positie zou moeten hebben. Het zou interessant zijn te weten of de IGZ dit standpunt onderschrijft. “Daar kan de IGZ geen uitspraken over doen”, laat Bilkert resoluut weten. “De functies en verantwoordelijkheden moeten wel benoemd worden, maar de precieze taakverdeling kan in ieder ziekenhuis verschillend zijn. Soms zit de microbioloog buiten het ziekenhuis. Dan is er ook een andere werkrelatie. Als er een slechte verhouding is, zoals de tuchtrechter bij het Maasstad Ziekenhuis constateerde, kun je ook niet goed met elkaar samenwerken. De hiërarchische relatie moet per ziekenhuis goed worden vastgelegd, maar over de vorm doen wij geen uitspraken.” De Maasstad-problemen hebben geleerd dat er een constructief samenwerkingsverband moet zijn tussen artsen-microbioloog en de ziekenhuisorganisatie. Onduidelijkheden over de precieze taakverdeling komen vaak naar voren in stresssituaties of in geval van calamiteiten. Op een dergelijk moment is de vraag wie de knopen doorhakt. KRIZ-2 laat die vrijblijvendheid los en schrijft voor dat de artsen-microbioloog in de ‘lead’ moeten zijn. Dit moet door de Raad van Bestuur organisatorisch worden vastgelegd. “Het belangrijkste is dat iedereen weet wie waarvoor verantwoordelijk is in geval van calamiteiten of stress”, aldus Bilkert. “Het is onmiskenbaar dat de verantwoordelijkheden benoemd moeten zijn. De partijen (VHIG en NVMM, red.) zijn echter nooit bij elkaar gekomen om hun beroepsbeelden in elkaars verlengde te maken.” Er is dus geen norm opgesteld over de vraag hoe de artsen-microbioloog en de deskundigen infectiepreventie zouden moeten samenwerken. Dat is afhankelijk van hoe het lokaal is geregeld. Overigens toetst de IGZ de relatie tussen beide partijen wel op andere niveaus in de organisatie door navraag te doen bij verpleegafdelingen en medisch specialisten. De IGZ probeert dan een indruk te krijgen van de kwaliteit van de samenwerking tussen artsen-microbioloog en deskundigen infectiepreventie en hoe deze uitstraalt op anderen binnen het ziekenhuis. Hierbij worden de zorgkwaliteit en de veiligheid van de patiënten bovenal getoetst.

De Maasstad-casus is voor de beroepsgroep één van de meest indrukwekkende incidenten van de afgelopen jaren geweest. Bilkert denkt dat het voor de professionalisering van het vak medische microbiologie en deskundigen infectiepreventie buitengewoon belangrijk is dat hierover een tuchtrechtelijk uitspraak is gekomen. Door de uitspraak van de tuchtrechter ontstond echter de indruk dat het functioneren van de artsen-microbioloog de kern van het probleem vormde, terwijl het probleem veel breder was. “De artsen-microbioloog hadden ook hun verantwoordelijkheid kunnen teruggeven, de Inspectie kunnen bellen of ze hadden steun kunnen zoeken bij collega’s buiten het ziekenhuis”, aldus Bilkert. “In de uitspraak staat dat de hele keten debet was, en zo hebben wij (de IGZ, red.) het ook bedoeld.”

Is de uitspraak met de berispingen voor drie van de vier microbiologen naar tevredenheid van de IGZ verlopen? Bilkert: “Het past de inspectie niet om een oordeel te hebben over de uitspraak van een rechter. De IGZ heeft geen hoger beroep aangetekend, dat zegt genoeg.” Langelaar benoemt dat het geen strafzaak is, en het dus niet gaat om de gerechtigheid voor de individuele patiënten. Voor de IGZ stonden enkele kernvragen centraal bij deze zaak: Kijkt de Inspectie goed naar kwaliteitssystemen? En wordt ze daarin bevestigd door de tuchtrechter, die ook naar de zorgkwaliteit kijkt? “Dat is voor alle partijen goed, maar wel triest voor de betrokkenen”, besluit Bilkert. “Voor de veiligheid van patiënten en voor het vak infectiepreventie is de uitspraak belangrijk geweest.”

Referenties

1. Spijkerman IJ, van Doorn LJ, Janssen MH, et al. Transmission of hepatitis B virus from a surgeon to his patients during high-risk and low-risk surgical procedures during 4 years. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2002;23:306-12.
2. De kwaliteit van het antibioticabeleid in Nederland. Advies aangaande het restrictief gebruik van antibiotica en het invoeren van Antibioticateams in de Nederlandse ziekenhuizen en in de Eerste lijn. SWAB, 21 juni 2012 (www.swab.nl).
3. Kamerbrief over antibioticaresistentie dd 2 juli 2013 (www.rijksoverheid.nl).
4. Erasmus V. Compliance to Hand Hygiene Guidelines in Hospital Care. A stepwise behavioural approach. Proefschrift Erasmus Universiteit Rotterdam; 25 april 2012.
5. VHIG en NVMM. Kwaliteitsrichtlijn voor Infectiepreventie in Ziekenhuizen (KRIZ) versie 2, november 2012. ISBN 9789461692177.

Als het kalf verdronken is...

H.A. Verbrugh

Drie collega's artsen-microbioloog verbonden aan het Maasstad Ziekenhuis werden in mei jl. door het Regionaal Tuchtcollege te Den Haag berispt vanwege hun handelen ten tijde van de *Klebsiella pneumoniae* OXA-48-uitbraak in 2010-2011. De opgelegde maatregel, "slechts" een berisping, verraste de pers en de familieleden van slachtoffers van die uitbraak, zij hadden een zwaardere maatregel verwacht (een schorsing of zelfs het schrappen van de arts-microbioloog uit het BIG-register), er waren immers doden te betreuren geweest. Bovendien had de Inspectie voor de Gezondheidszorg (IGZ) alleen deze drie BIG-geregistreerde personen aangeklaagd bij het tuchtcollege, omdat de IGZ vond dat deze arts-microbioloog primair verantwoordelijk waren voor de uitbraak. Het tuchtcollege was het daar duidelijk niet mee eens. De aangeklaagde arts-microbioloog waren weliswaar mede verantwoordelijk voor het mismanagement van de uitbraak, en kregen daarom een berisping, maar zeker niet alleen zij. Met name de ziekenhuishygiënisten, andere medisch specialisten en verpleegkundigen, en, last but not least, het management en de bestuurders van het Maasstad hadden gefaald, er was duidelijk sprake van *systeemfalen*. Van systeemfalen kan men spreken indien een collectief van verschillende institutionele actoren er langdurig niet in slaagt om een gezamenlijke doelstelling of overstijgend gezamenlijk belang te realiseren, en het ook niet binnen het bereik van een enkele groepering (laat staan een individu) ligt om realisatie dichterbij te brengen. Een belangrijk onderdeel van het systeemfalen in het Maasstad Ziekenhuis was dat er geen enkele formele relatie bestond tussen de groep arts-microbioloog en de groep ziekenhuishygiënisten, zij werkten niet goed samen, dat is vragen om moeilijkheden. Illustratief voor systeemfalen is ook dat de ziekenhuisbrede Infectiecommissie van het Maasstad in 2005 had besloten om de WIP-richtlijn Bijzonder resistent micro-organismen (BRMO) *niet* in te voeren[sic]. Voor de uitspraak van het Regionaal Tuchtcollege verwijs ik de lezer naar de website van dit blad (<http://www.nvmm.nl/ntmmlijst>).

De les van Maasstad voor onze beroepsgroep is dat wij steeds moeten weten of wij onze verantwoordelijkheid ten aanzien van de infectiepreventie wel waar kunnen maken in de instelling waar wij zijn aangesteld. Zo niet, dan

moeten wij expliciet afstand doen van die verantwoordelijkheid, c.q. die verantwoordelijkheid gedocumenteerd en beargumenteerd terugleggen bij de Raad van Bestuur en de Medische staf.

De IGZ heeft ook gefaald, heeft immers deze uitbraak niet kunnen voorkomen, maar lijkt geen les te hebben geleerd van Maasstad. De IGZ heeft jarenlang niets gedaan aan de gebrekkige samenwerking tussen arts-microbioloog en ziekenhuishygiënisten in diverse Nederlandse ziekenhuizen, het Maasstad inclusief, en persisteert in haar falen iets wezenlijks te doen aan het verbeteren van die broodnodige samenwerking tussen deze twee beroepsgroepen, lees het interview met de inspecteurs in deze uitgave. Heel bijzonder daarbij is dat de IGZ kennelijk weigert de nieuwe NVMM/VHIG veldnorm KRIZ-2 uit 2012 als zodanig te gebruiken bij haar toezicht. Voor het eerst is in de KRIZ-2 veldnorm voorgeschreven dat arts-microbioloog en ziekenhuishygiënisten nauw met elkaar moeten samenwerken en dat de arts-microbioloog daarbij de medische eindverantwoordelijkheid moet hebben. In het nu lopende IGZ-onderzoek naar het BRMO-beleid in Nederlandse ziekenhuizen gebruikt de IGZ de verouderde, niet meer geldige, KRIZ-1 normen uit 2008, waar over die noodzakelijke samenwerking niets staat voorgeschreven. Tsjja, met zo'n IGZ schieten we weinig op, blijven we steken in (het gedachtegoed uit) de vorige eeuw. Waarom neemt de IGZ KRIZ-2 niet als toetssteen, c.q. waarom...

...weigert de IGZ de put te dempen ?

* De volledige tekst van de aanklacht en een expertiserapport ter zake van Verbrugh zijn bij de auteur opvraagbaar.

H.A. Verbrugh, arts-microbioloog, lid en oud-voorzitter van de NVMM, mede-oprichter van de WIP en de SWAB. E-mail: h.a.verbrugh@erasmusmc.nl

Amoxicilline-clavulaanzuurgevoeligheidstesten 'Fixed ratio' versus 'fixed concentration' van clavulaanzuur

A. Trouvé, F. Verhaest

Amoxicilline-clavulaanzuur is een β -lactam- β -lactamase-inhibitorcombinatie met antimicrobiële activiteit tegen grampositieve, gramnegatieve en anaerobe micro-organismen. Het werd gesynthetiseerd in de jaren 1960 als reactie tegen de toenmalige opkomst van *E. coli*-isolaten, die resistentie vertoonden tegen de aminopenicillines, te wijten aan de productie van een TEM-1- β -lactamase. Het werd wereldwijd gebruikt en is nog altijd vooral belangrijk omdat het als enige combinatie een perorale toepassing heeft. Dit veelvuldig gebruik leidde evenwel tot het ontstaan van resistenties, die meestal het gevolg zijn van verschillende mechanismen.^{1,2}

Trefwoorden

Amoxicilline-clavulaanzuurgevoeligheidstesten, β -lactam- β -lactamase-inhibitorcombinatie

Mechanismen van resistentie

Hyperproductie van TEM-1- β -lactamase is het meest voorkomende mechanisme. Dit is te wijten aan de aanwezigheid van zeer efficiënte promotoren of door de aanwezigheid van het corresponderend *bla*-gen, dit in verschillende kopieën. Een tweede mechanisme is het intrinsieke resistentiemechanisme, te wijten aan de natuurlijke productie van verschillende chromosomale β -lactamasen, die niet of zwak worden geïnhibeerd door deze β -lactam- β -lactamase-inhibitoren. Voorbeelden hiervan zijn de AmpC- β -lactamasen in *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Morganella* en *Pseudomonas aeruginosa*, of de metallo- β -lactamasen zoals de L1 in *Stenotrophomonas maltophilia*. In andere gevallen kan de hyperproductie van constitutieve chromosomale β -lactamasen de activiteit van de β -lactam- β -lactamase-inhibitor-combinaties reduceren. Dit is het geval voor de AmpC-hyperproductie in *E. coli* en SHV-1-hyperproductie in *Klebsiella pneumoniae*-isolaten.^{1,2}

Bij *E. coli*-isolaten kan tevens resistentie ontstaan, wanneer permeabiliteitsdeficiënties worden waargenomen, waarbij de OmpF- en/of OmpC-porines betrokken zijn. Het tekort aan één of twee van deze porines wordt enkel relevant in combinatie met de aanwezigheid van een

β -lactamase. Dit is vooral belangrijk wanneer OXA-type β -lactamasen aanwezig zijn, daar deze enzymen slechts zwak worden geïnhibeerd door clavulaanzuur.^{1,2} Ten slotte rest er nog de belangrijke groep van de IRT β -lactamasen (Inhibitor Resistant TEM- β -lactamasen). Deze groep (Bush-Jacoby-Medeiros groep 2br) omvat een reeks van plasmiden gecodeerde varianten van TEM-1 en TEM-2, met verlaagde affiniteiten voor amino-, carboxy- en ureïdo-penicillines en gewijzigde interacties met de irreversibele 'zelfmoord'-inhibitoren zoals clavulaanzuur. Studies over de prevalentie van deze IRT- β -lactamasen zijn schaars. Een eerste Franse studie in 1993 heeft het over een amoxicilline-clavulaanzuur-resistentie van 25%, waarvan 27,5% van het IRT-type. Recentere Spaanse studies tonen prevalenties aan van 5,4 en 9,5%. Te noteren valt dat de eerste IRT's in de Verenigde Staten pas werden gerapporteerd in 2004.¹

Gevoeligheidsbepaling

Standaard in-vitro-gevoeligheidstesten zijn onvoldoende betrouwbaar voor de identificatie van de IRT's en discrepanties werden geobserveerd bij het vergelijken van diskdiffusie en MIC-resultaten, vooral bij deze isolaten die een intermediaire gevoeligheid vertonen. Verschillen tussen de vooropgestelde breekpunten volgens verschillende internationale richtlijnen maken de zaak nog ingewikkelder, zeker als resultaten van verschillende surveillance studies met elkaar moeten vergeleken worden (tabel 1). Een derde, zeer belangrijk gegeven is de keuze van de concentratie van de inhibitor. Ofwel wordt gekozen voor een 'fixed ratio' (2:1) of voor een 'fixed concentration' (2 of 4 μ g/ml). In de drie gevallen zullen de resultaten verschillend zijn (2,5). De CLSI-richtlijnen schreven van in het begin het gebruik voor van de 'fixed ratio' (2:1).

F. Verhaest, AZ Gezondheidszorg Oostkust.
Correspondentieadres: A. Trouvé, ApBiol.-Hygiënist, vzw
Gezondheidszorg Oostkust, e-mail: andre.trouve@vzwgo.be

Tabel 1. MIC-breekpunten *Enterobacteriaceae* (*E.coli*) amoxicilline-clavulaanzuur volgens CLSI en EUCAST

	S (µg/ml)	I (µg/ml)	R (µg/ml)
CLSI	≤8/4	16/8	≥32/16
EUCAST	≤8/2		>8/2

De nieuwe EUCAST regels daarentegen houden het bij de 'fixed concentration', met als vaste concentratie van clavulaanzuur 2 µg/ml. Een tweede belangrijk verschil tussen de richtlijnen is het gegeven dat bij EUCAST de intermediaire categorie ontbreekt.

Probleemstelling

In een studie van Halaby⁴ werd bij 100 amoxicilline-resistente *E. coli*-isolaten de gevoeligheid voor amoxicilline-clavulaanzuur bepaald en dit op drie manieren: Mueller Hinton (MH) agarplaten met 'fixed ratio'-concentraties (4:2, 8:4, 16:8 en 32:16 µg/ml)¹, Mueller Hinton-platen met dezelfde concentratie aan amoxicilline, maar met een vaste clavulaanzuurconcentratie van 2 µg/ml² en E-testen voor zowel amoxicilline als voor de combinatie amoxicilline-clavulaanzuur.³ Bij een amoxicilline-MIC van 8 µg/ml (EUCAST-breekpunt) werden met de 'fixed ratio'-methode 58% van de stammen geïnhibeed. Met de 'fixed concentration'-methode was dit nog 43%. De resultaten worden weergegeven in tabel 2.⁴

In een gelijkaardige studie testte Oliver⁵ 100 *E. coli*-isolaten met verschillende β-lactam-resistentiefenotypes uit volgens vijf verschillende methoden. De resistentiefrequenties waren als volgt: 'fixed ratio' agardilutie: 12%, 'fixed concentration' agardilutie 4 µg/ml: 17%, 'fixed ratio' microdilutie: 9%, en diskdiffusie: 9%. Bij het gebruik van de vijfde methode, 'fixed concentration' agardilutie 2 µg/ml, wordt, volgens de auteur, de gevoeligheid van amoxicilline niet voldoende hersteld indien met een vaste concentratie van 2 µg/ml wordt gewerkt: 48% van de stammen werden getypeerd als resistent.⁶

Tabel 2. Amoxicilline-clavulaanzuurgevoeligheidstest: 'fixed ratio' versus 'fixed concentration' van clavulaanzuur.

Concentratie amoxicilline (µg)	A/C, fixed ratio 2:1 (n=100) (% S)	A/C, fixed concentration, 2 µg (n=100) (% S)
4	7	7
8	58	43
16	73	64
32	92	70

A/C: Amoxicilline-clavulaanzuur

Tabel 3. Vergelijkende analyse van resultaten van amoxicilline-clavulaanzuurgevoeligheidstesten.

Methode	Concentratie-inhibitor	% gevoelig	% intermediair	% resistent
Agardilutie	2:1	61	27	12
Agardilutie	2 mg/l	38	14	48
Agardilutie	4 mg/l	63	20	17
Microdilutie	2:1	78	13	9
Diskdiffusie	10 µg	74	17	9

In het eigen laboratorium werd een vergelijkende studie gemaakt waarbij de resultaten uit de Phoenix met elkaar werden vergeleken. In een eerste periode (1 september 2008 – 15 februari 2010) werden de gevoeligheden van 1.481 *E. coli*-isolaten uitgezet. Becton Dickinson gebruikte op dit moment de 'fixed ratio' (2:1)-methode en de resultaten werden afgelezen volgens de CLSI-breekpunten. Deze resultaten werden vergeleken met de resultaten uit een tweede periode (1 september 2010 – 15 februari 2012), op een totaal van 1.765 *E. coli*-isolaten. Op dit moment was Becton Dickinson al overgeschakeld naar de EUCAST-richtlijnen: de gebruikte methode is de 'fixed concentration'-methode (2 µg/ml), terwijl de resultaten worden afgelezen volgens de EUCAST-breekpunten. De resultaten uit de eerste periode zijn afgelezen volgens de CLSI-richtlijnen: 80,9% van de stammen worden als gevoelig getypeerd, 11,8% als intermediair, terwijl 7,3% als echt resistent gedefinieerd worden. Indien de resistenties afgelezen zouden worden volgens de EUCAST-richtlijnen, zonder rekening te houden met het verschil in concentratie 8/4 en 8/2, dan zou 19,1% van de stammen als resistent worden afgelezen.

Tabel 4. Vergelijkende gevoeligheden amoxicilline-clavulaanzuur met Phoenix AZGO.

Fixed ratio 2:1			Fixed concentration 2 µg/ml		
Antimicrobiële concentratie %			Antimicrobiële concentratie %		
			AXC	< 2/2	10,8 (S)
AMC	< 4/2	48,1 (S)			
			AXC	4/2	33,5 (S)
			AXC	8/2	18,8 (S)
AMC	8/4	32,8 (S)			
			AXC	> 8/2	36,9 (R)
AMC	16/8	11,8 (I)			
AMC	> 16/8	7,3 (R)			

In de tweede periode worden 63,1% van de stammen als gevoelig afgelezen. Het enige verschil met de eerste periode is het verschil in concentratie van clavulaanzuur (8/4 versus 8/2). Er vanuit gaande dat hier gesproken wordt over een gelijkaardige populatie, kan ook hier besloten worden dat de lage concentratie van 2 µg/ml clavulaanzuur een belangrijke determinerende factor is.

‘Fixed ratio’ of ‘fixed concentration’?

Bij het gebruik van een β-lactam-β-lactamase-inhibitor is de belangrijkste vraag die moet worden gesteld of het enzym dat wordt aangemaakt door het organisme gevoelig genoeg is voor de inhibitor, zodat de activiteit van het eigenlijke β-lactam-antibioticum kan worden hersteld. Wanneer een verdunning volgens een ‘fixed ratio’ wordt gebruikt, wordt de concentratie van de twee parameters tegelijkertijd gewijzigd: de concentratie van het actieve bestanddeel (waarop de antimicrobiële werking steunt) en de concentratie van de inhibitor, die enkel effect kan hebben indien in voldoende hoeveelheid aanwezig.

Greenwood⁷ probeert de problemen die zich voordoen met het gebruik van ‘fixed ratio’ uit te leggen met een hypothetisch voorbeeld. Het beginpunt is een *E. coli*-isolaat, waarvan de MIC van amoxicilline groter is dan 1 mg/l, dit wegens de aanwezigheid van een β-lactamase dat een concentratie vereist aan clavulaanzuur van 8 µg/ml voor complete inhibitie. Als een 2:1-ratio wordt gehanteerd, zullen concentraties van amoxicilline > 16 µg/ml genoeg clavulaanzuur bevatten om amoxicilline te beschermen tegen hydrolyse. De MIC zal gedetermineerd worden als 16 µg/ml. Bij een concentratie van 8 mg amoxicilline, zal er te weinig clavulaanzuur aanwezig zijn en de kiem zal groeien. Daarentegen zal de MIC, indien getitreerd in de aanwezigheid van een ‘fixed concentration’ van 8 µg/ml in de normale range komen te liggen van 1-4 µg/ml. Het antwoord op de vraag zal niet afhangen van de ratio die bereikbaar is ‘in vivo’, maar of er op de plaats van infectie werkelijk 8 µg/ml clavulaanzuur aanwezig is. Wat er dus nodig is op de plaats van infectie is genoeg amoxicilline om het organisme te inhiberen en genoeg clavulaanzuur om het actieve antibioticum te beschermen, ongeacht de actuele ratio tussen deze twee.⁷

Een belangrijke vraag zal ook zijn welke concentratie van β-lactamase-inhibitor moet gebruikt worden in de ‘in-vitro’-testen. Hier zijn drie factoren essentieel: (i) de hoeveelheid die nodig is om het enzym te inhiberen, (ii) de intrinsieke activiteit van de inhibitor zelf en (iii) de werkelijke concentratie aan inhibitor die kan bereikt worden ‘in vivo’.⁷

De concentratie van β-lactamase-inhibitor die nodig is om de activiteit van een enzymlabiele partner te herstellen zal afhangen van het enzym en de hoeveelheid van productie. De gemiddelde concentratie van clavulaanzuur

Tabel 5. Maximale plasmaconcentratie en halfwaardetijd van clavulaanzuur.⁷

β-lactamase-inhibitor	Dosis (mg)	C _{max} (mg/l)	Plasmahalfwaardetijd (h)
Clavulaanzuur (oraal)	250	5,6	1
Clavulaanzuur (iv)	200	16	1

om de MIC van amoxicilline bij TEM-1 producerende *E. coli*-isolaten naar 8 µg/ml terug te brengen, ligt tussen 5,4 en 12,7 µg/ml. MIC's van clavulaanzuur alleen voor Enterobacteriaceae liggen meestal > 16 µg/ml.⁸

‘Fixed concentration’

De studie van Oliver toont aan dat de resultaten bekomen met een ‘fixed concentration’ van 4 µg/ml gelijklopend zijn aan deze bekomen met de ‘fixed ratio’ 2:1. Oliver is dan ook geneigd om deze concentratie te gebruiken in de ‘in-vitro’-testen met als breekpunt 8/4 µg/ml. Volgens hem worden zo de meeste high-level β-lactamase hyperproducerende isolaten gecategoriseerd als niet-gevoelig en low- en moderate level β-lactamase-producerende isolaten als niet-resistent.⁶

De vraag is nu welke concentratie er echt bereikt wordt op de plaats van infectie. Tabel 5 toont de maximale plasmaconcentraties en de halfwaardetijd van clavulaanzuur.⁷

Voor de orale toepassing zou de geschikte concentratie na een orale toediening van 250 mg dus 4 µg/ml moeten zijn, alhoewel bij deze concentratie slechts weinig β-lactamase echt geïnhibeerd zouden worden. Tabel 6 toont de gebruikte toepassingen in Nederland. Het valt op dat de hoogste concentratie aan clavulaanzuur voor perorale toepassing 125 mg bedraagt.

De meeste auteurs gaan er dus ook van uit dat de piekconcentratie in serum na orale inname niet hoger is dan 2 µg/ml, hoewel klinische data wel de breekpunten 8/4 µg/ml ondersteunen.⁹ Dit reflecteert echter duidelijk de omstandigheden waarin de formule wordt gebruikt: het belangrijkste gebruik van amoxicilline-clavulaanzuur is bij urineweginfecties, waarbij hogere breekpunten meer relevant lijken te zijn. Bij infecties, waarbij β-lactamase-producerende isolaten van *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Bacteroides fragilis* en *Staphylococcus aureus* betrokken zijn, is de nodige concentratie aan clavulaanzuur om de gevoeligheid te herstellen veel kleiner.⁷

Voor de detectie van de aanwezigheid van IRT β-lactamase is het gebruik van een ‘fixed concentration’ van 2 µg/ml verkiesbaar omdat de isolaten die dergelijke enzymes dragen resistent blijken te zijn bij het breekpunt > 32 µg/ml, terwijl ze soms als gevoelig of intermediair worden getypeerd indien gebruik wordt gemaakt van de ‘fixed 2:1 ratio’-techniek.² Een andere factor is dat de graad

Tabel 6. Formules toepasbaar in Nederland.

Augmentin	250/25 mg	Poeder voor injectie	Intraveneus gebruik
Augmentin	500/50 mg	Poeder voor injectie	Intraveneus gebruik
Augmentin	500/100 mg	Poeder voor injectie	Intraveneus gebruik
Augmentin	1000/100 mg	Poeder voor injectie	Intraveneus gebruik
Augmentin	1000/200 mg	Poeder voor injectie	Intraveneus gebruik
Augmentin	1000/200 mg	Poeder voor infusie	Intraveneus gebruik
Augmentin	500/125 mg	Filmomhulde tabletten	Oraal gebruik
Augmentin	875/125 mg	Filmomhulde tablet	Oraal gebruik
Augmentin	100/12,5 mg	Poeder voor orale suspensie	Oraal gebruik
Augmentin	125/32,25 mg/ 5 ml	Poeder voor orale suspensie	Oraal gebruik
Augmentin	250/62,5 mg/ 5 ml	Poeder voor orale suspensie	Oraal gebruik
Amoxicilline-clavulaan	1000/62,5 mg	Poeder voor orale suspensie	Oraal gebruik

van resistentie rechtstreeks evenredig is met de concentratie van het IRT-enzym, wat er nogmaals op wijst dat 'low-level'-productie niet detecteerbaar kan worden indien gebruik wordt gemaakt van de 'fixed ratio'.²

Diskdiffusietest

De richtlijn te werken met een 'fixed concentration' geeft discrepante resultaten met andere bestaande gevoeligheidsbepalingen die zijn gebaseerd op 'fixed ratio' zoals de E-test en de veelgebruikte conventionele diskdiffusietest. Bij deze testen wordt de formatie van de zone beïnvloed door zowel de diffusiekarakteristieken van beide stoffen als van de bereikte concentraties. Bij het gebruik maken van 30 µg amoxy-clavulaanzuur disks (20 µg amoxicilline, 10 µg clavulaanzuur) bedraagt de bereikte concentratie van clavulaanzuur op 5 mm van de rand 6,9 µg/ml, dit na 1 uur. Na drie uur incuberen bedraagt de concentratie 8,8 µg/ml, een concentratie die adequaat is om de meeste enterobacteriële β-lactamase te inhiberen.⁷

In het laboratorium AZ Gezondheidszorg Oostkust werden 100 *E. coli*-isolaten onderworpen aan de MIC-bepaling volgens Phoenix en aan de diskdiffusiemethode. De resultaten werden afgelezen volgens de CLSI-richtlijnen en de EUCAST-richtlijnen (tabel 7).

Tabel 7. Breekpunten diskdiffusiemethode amoxicilline-clavulaanzuur volgens CLSI en EUCAST.

	S (mm)	I (mm)	R (mm)
CLSI	>18	14-17	<13
EUCAST	>17		<17

Van de 100 stammen werden door de Phoenix 42 isolaten als resistent getypeerd. Van deze stammen werden respectievelijk 10 en 16 isolaten als gevoelig beoordeeld indien gebruik gemaakt wordt van de diskdiffusietest volgens de CLSI- en EUCAST-richtlijnen. Het verschil ligt in het breekpunt: > 17 mm EUCAST tegenover > 18 mm CLSI. De andere 10 stammen vertoonden zones tussen 18 en 23 mm (18:2, 19:3, 20:1, 21:2, 22:1, 23:1).

Vier stammen die door de Phoenix als gevoelig werden getypeerd, werden met de diskdiffusietest volgens de EUCAST-richtlijnen als resistent beoordeeld, volgens de CLSI-richtlijnen als intermediair (15 mm, MIC 8/2: 3, 14 mm, MIC < 2/2: 1).

Besluit

Een eenduidige, door iedereen aanvaarde richtlijn voor het uitvoeren van de gevoeligheidsbepaling voor de combinatie amoxicilline-clavulaanzuur bestaat er duidelijk niet. Tot voor kort werd in de meeste laboratoria gebruikgemaakt van de 'fixed ratio'-techniek, waarbij de gevoeligheden werden afgelezen volgens de CLSI-richtlijnen. De EUCAST-richtlijnen daarentegen maken gebruik van de 'fixed concentration'-techniek en houden hierbij de concentratie van clavulaanzuur laag (2 µg/ml), dit gesteund op het feit dat hogere concentraties in het serum na orale inname niet worden teruggevonden. Daarbij hebben de

Tabel 8. Vergelijking Phoenix en diskdiffusietest volgens CLSI en EUCAST, AZGO.

Phoenix	Diskdiffusie EUCAST	Diskdiffusie CLSI	%	Zones
S	S	S	54	≥ 18 mm
S	R	I	4	14 mm (1); 15 mm (3)
R	R	R	14	≤ 13 mm
R	R	I	12	14 mm (2); 15 (8); 16(2)
R	S	I	6	17 mm (6)
R	S	S	10	18 mm (2); 19 mm (3); 20 mm (1); 21mm (2); 22 mm (1); 23 mm (1)

verhoudingen tussen amoxicilline en clavulaanzuur in de verschillende preparaten die in de handel verkrijgbaar zijn, nooit nog de waarde 2:1. Dit was in de beginfase wel het geval, waar de 'fixed ratio'-techniek dan ook op steunde. Welke concentratie van clavulaanzuur zal worden gebruikt (2 of 4 µg/ml) is van essentieel belang. Dit bewijzen de hierboven aangehaalde studies. De keuze van 2 µg/ml, zoals EUCAST aanbeveelt, brengt het aantal gevoelige stammen ontegenzeggelijk naar beneden, wat menig clinicus zal verbazen. Als daarbij afgelezen wordt volgens de EUCAST-richtlijnen, worden alle CLSI-intermediaire stammen nu ook als resistent getypeerd.

Desalniettemin zijn er twee belangrijke redenen waarom zou moeten gekozen worden voor de 'fixed concentration'-techniek met 2 µg/ml clavulaanzuur. Ten eerste blijkt deze de beste predictor te zijn van klinische effectiviteit, alhoewel de correlaties tussen de verschillende testregimes en de klinische 'outcome' strikt genomen nog niet werden aangetoond. Tot bewezen kan worden dat het ene systeem een betere 'outcome' heeft dan het andere, moet gekozen worden voor de voorzichtige aanpak. De studie van M.A. Leverstein-van Hall bij 89 sepsispatiënten toont alvast een betere outcome aan bij het gebruik van de EUCAST-richtlijnen.¹¹ Ten tweede is er de belangrijke groep van de IRT β-lactamase. Om in deze groep onderschatting van de resistenties te vermijden wordt beter gebruik gemaakt van de 'fixed concentration'-techniek.

Deze besluitvorming impliceert duidelijke problemen wanneer gebruik wordt gemaakt van andere technieken, zoals bijvoorbeeld de diskdiffusietest. Onze studie toont aan dat, bij gebruik van de EUCAST-richtlijnen 16% van de onderzochte stammen als gevoelig worden getypeerd, in

tegenstelling tot resistent volgens de Phoenix. Als gebruik wordt gemaakt van de CLSI-richtlijnen, wordt dit herleid tot 10%.

Referenties

1. Drawz SM, R.A. Bonomo RA. Three decades of β-lactamase Inhibitors. *Clin Microb Reviews*. 2010;23:160.
2. Canton R, Morsini MI, Martin O, et al. Canton R. IRT and CMT I β-lactamases and inhibitor resistance. *CMI*. 2008;14 Supl 1:53-62.
3. Vanjak D, Muller-Serieys C, Picard B, et al. Activity of β-lactamase inhibitor combinations on *Escherichia coli* isolates exhibiting various patterns of resistance to beta-lactam agents. *Eur J Clin Microb Infect Dis*. 1995;14:922-78.
4. Halaby T, Al Naiemi N, van 't Klooster T, et al. Amoxicillin-clavulanic acid susceptibility testing: fixed ratio versus fixed concentration of clavulanic acid. *ECCMID*. 2011.
5. Kaye K, Gold H, Schwaber M, et al. Variety of β-lactamases produced by amoxicillin-clavulanate-resistant *Escherichia coli* Isolated in the Northeastern United States. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:1520-5.
6. Oliver A, Perez-Vasquez M, Martinez-Ferrer M. Ampicillin-Sulbactam and Amoxicillin-Clavulanate Susceptibility Testing of *Escherichia coli* Isolates with different β-lactam Resistance Phenotypes. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43:862-7.
7. Greenwood D. Fixed of variable concentrations of β-lactamase Inhibitors in in-vitro tests? *J Antimicrob Chemother*. 1996;38:17-20.
8. Livermore D. Determinants of the activity of β-lactamase Inhibitors. *J Antimicrob Chemother*. 1993;31(A):9-21.
9. Stephen G. Antimicrobial susceptibility tests for β-lactam β-lactamase Inhibitor: predictors of clinical efficacy? *Clin Microb Newsl*. 1992;14:89-91.
10. Thomson CJ, Miles RS, Amyes SG. Susceptibility testing with clavulanic acid: fixed concentration versus fixed ratio. *Antimicrobiol Agents Chemother*. 1995;39:2591-2.
11. Leverstein-van Hall MA, Waar K, Muilwijk J, Cohen Stuart J, on behalf of the ISIS-AR Study Group. Consequences of switching from a fixed 2: 1 ratio of amoxicillin/clavulanate (CLSI) to a fixed concentration of clavulanate (EUCAST) for susceptibility testing of *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother*. 2013 Jun 13 [Epub ahead of print].

De duur van ESBL-dragerschap

S.P. van Mens, A. Troelstra, M.J.M. Bonten

Samenvatting

Dragers van ESBL-producerende *Enterobacteriaceae* worden op advies van de Werkgroep Infectiepreventie in contactisolatie verpleegd. Over het nut van het volgen van deze patiënten na ontslag bestaat geen eenduidigheid; het is onbekend hoe lang kolonisatie met een ESBL-producerende stam persisteert. In dit artikel geven wij een overzicht van enkele recente publicaties over de duur van rectaal ESBL-dragerschap, waaruit blijkt dat de ESBL-producerende bacterie bij ongeveer de helft van de dragers na een half jaar nog kan worden aangetoond.

Trefwoorden

ESBL, dragerschap, duur, infectiepreventie, isolatie

Summary

In Dutch hospitals contact precautions are being advised for carriers of ESBL-producing *Enterobacteriaceae*. There is however no consensus on whether or not these patients should be screened for ESBL-carriage on readmission, because it is not clear what the average duration of ESBL-carriage is. In this article we provide an overview of the recently published literature on this subject. We conclude that in half of the carriers the ESBL-producing microorganism is still detected after 6 months.

Contactisolatie

De prevalentie van extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producerende *Enterobacteriaceae* neemt toe in Nederland. Recent werd rectaal ESBL-dragerschap beschreven bij 10% van de patiënten die zich bij hun huisarts presenteerden met milde gastro-intestinale klachten.¹ Bij screening van in het ziekenhuis opgenomen patiënten werd een rectaal ESBL-dragerschapspercentage gevonden van 5%.² In beide studies werd gebruikgemaakt van ophopingsmedia en selectieve agars voor de detectie van ESBL-producerende stammen.

Naar advies van de Werkgroep Infectiepreventie (WIP) worden patiënten die bekend ESBL-drager zijn in het ziekenhuis in contactisolatie verpleegd, om verspreiding binnen het ziekenhuis te voorkomen.³ Het is echter niet duidelijk hoe lang kolonisatie met een ESBL-producerend micro-organisme na ontslag aanhoudt. In de recent

verschenen WIP-richtlijn 'Bijzonder resistente micro-organismen (BRMO)' is de aanbeveling toegevoegd om bij heropname van patiënten die korter dan een jaar geleden BRMO-positief zijn bevonden de isolatiemaatregelen direct weer in te stellen.³ In deze richtlijn wordt echter een lacune in de kennis over de duur van kolonisatie met een BRMO geconstateerd, net zoals in de richtlijn 'Management of Multidrug-Resistant Organisms' van het CDC.^{3,4}

Bij een literatuuronderzoek dat wij naar dit onderwerp verrichtten (*tabel 1* en *2*), bleken er in de afgelopen jaren enkele studies naar de duur van ESBL-dragerschap te zijn verschenen. In dit artikel zetten wij een aantal relevante publicaties op een rij, waarin percentages persisterend dragerschap bij volwassenen worden beschreven na een gedefinieerde follow-upperiode van verblijf buiten het ziekenhuis en/of verpleeghuis. De studies zijn onder te verdelen in studies naar patiënten bij wie tijdens ziekenhuisopname een ESBL-producerend micro-organisme werd geconstateerd en studies waarbij naar ESBL-dragerschap werd gezocht bij reizigers, al dan niet met klachten van diarree.

In een Zweedse studie door Alsterlund et al. werden patiënten bij wie tijdens ziekenhuisopname een ESBL-positieve *E. coli* werd gekweekt, structureel gevolgd in de tijd.^{5,6} Elke één tot drie maanden na ontslag werden faeces-, urine- en eventuele wondkweken afgenomen. Na een follow-upduur van 17-33 maanden waren in deze studie 11 van de 25 patiënten (44%) persisterend ESBL-drager met de oorspronkelijke stam. Na een follow-upduur van 41-59 maanden waren dit er 5 van de 23 (22%). Een gedeelte van deze patiënten was gekoloniseerd met een identieke ESBL-positieve stam in het kader van een ziekenhuisuitbraak. In deze studie werd geen systematische

Dr. A. Troelstra, prof. dr. M.J.M. Bonten, Universitair Medisch Centrum Utrecht, afdeling Medische Microbiologie, Heidelberglaan 100, 3584 CX Utrecht.
Correspondentieadres: drs. S.P. van Mens, Universitair Medisch Centrum Utrecht, afdeling Medische Microbiologie, Heidelberglaan 100, 3584 CX Utrecht, e-mail: S.P.van.Mens@umcutrecht.nl.

informatieverzameling gepresenteerd met betrekking tot eventuele heropnames en/of antibioticagebruik in de follow-upperiode.

Tabel 1. Zoektermen zoekstrategie d.d. 1 juni 2012.

PubMed-zoektermen	
	(gram-negative[tiab] OR gram negative[tiab] OR Enterobacteriaceae[tiab] OR Enterobacteria[tiab])
AND	(resistant[tiab] OR resistance[tiab] OR ESBL[tiab] OR extended-spectrum beta-lactamase[tiab])
AND	(colonization[tiab] OR colonisation[tiab] OR carriage[tiab])
AND	(duration[tiab] OR length[tiab] OR persistence[tiab] OR persistent[tiab])

Tabel 2. Selectiecriteria zoekstrategie d.d. 1 juni 2012.

Selectiecriteria PubMed/hits en referenties geselecteerde artikelen	
Titels	Enterobacteriaceae, mensen, Engels
Abstracts	ESBL/dragers/patiënten gevolgd in de tijd
Artikelen	Structureel na/buiten opname gekweekt, analyse duur dragerschap

Zahar et al. onderzochten in Frankrijk de duur van ESBL-dragerschap bij patiënten bij wie tijdens ziekenhuisopname een ESBL-producerende gram-negatieve staaf was gedetecteerd. Na ontslag werd bij de eerstvolgende heropname eenmalig een screening op ESBL-dragerschap uitgevoerd middels rectumkweken.⁷ De patiënten werden onderverdeeld aan de hand van het interval tussen ontslag en heropname. Van de 21 patiënten die binnen drie maanden na ontslag werden heropgenomen, waren er 13 (62%) nog steeds drager van een ESBL-producerende stam. In de groep patiënten met een eerste heropname tussen de drie en zes maanden na ontslag waren dat er 10 (53%) van de 19, bij heropname na zes tot twaalf maanden 7 van de 14 (50%) en bij heropname na meer dan twaalf maanden 1 van de 8 (13%).

Tijdens de ECCMID 2012 werd door Titelman et al. een Zweedse studie gepresenteerd waarbij patiënten behandeld voor een infectie met een ESBL-positieve *E. coli* of *K. pneumoniae* structureel werden gevolgd in de tijd.⁸ In faeces die drie maanden later werd ingeleverd werd bij 40 van de 61 (66%) patiënten een ESBL-producerende stam gekweekt, na zes maanden bij 34 van de 61 (55%) patiënten en na twaalf maanden bij 26 van de 61 (44%) patiënten. Informatie over heropnames en/of antibioticagebruik in de tussenliggende periode werd in deze studie wel verzameld,



maar deze factoren worden niet beschreven als significant geassocieerd met langdurig dragerschap.

Studies onder gezonde reizigers laten lagere percentages persisterend dragerschap zien. In een Zweedse studie werden 100 gezonde volwassenen gevolgd die niet bekend waren met ESBL-dragerschap. Zij werden direct na terugkeer van een reis buiten Noord-Europa onderzocht op dragerschap met een ESBL-producerende bacterie in de feces; 24 reizigers waren positief.⁹ Bij een controlekeek na zes maanden waren 5 van de 21 (24%) reizigers nog drager van een ESBL-positieve stam.

Tham et al. deden soortgelijk onderzoek bij voorheen gezonde mensen met reizigersdiarree bij wie in de feces een ESBL-positieve *E.coli* werd gekweekt.¹⁰ Bij 10 van de 41 (24%) van hen werd na drie tot acht maanden nog een ESBL-producerende *E.coli* gekweekt, terwijl dit op basis van typering niet altijd dezelfde stam betrof. Na drie jaar waren dit 4 van de 41 personen (10%).

Alle bovenstaande studies laten hoge percentages persisterend ESBL-dragerschap zien. In de besproken studies onder patiënten bij wie de ESBL-producerende bacterie in het ziekenhuis werd gedetecteerd, lijkt zeker de helft van de gekoloniseerde patiënten de bacterie na een half jaar nog niet kwijt te zijn. De patiëntenpopulaties in deze studies lijken vergelijkbaar met Nederlandse ESBL-dragers, die over het algemeen ook in het ziekenhuis worden geïdentificeerd. Bij reizigers, een jongere en gezondere patiëntengroep, ligt het percentage persisterend dragerschap lager: 24% na zes maanden. Vergeleken met de eerder beschreven 10% ESBL-dragerschap in de algemene Nederlandse populatie is dit nog steeds hoog. Hierbij kan worden aangemerkt dat de gepresenteerde percentages een onderschatting kunnen zijn van de werkelijke situatie: persisterend dragerschap werd in de meeste besproken studies slechts met één kweek vastgesteld. Het is echter niet zeker of een enkele negatieve ESBL-kweek voldoende is om het einde van dragerschap aan te tonen.¹¹ In vier van de vijf beschreven studies werd gescreend door middel van selectieve agars, zonder gebruik van ophopingsmedia.^{6-8,10}

De hoge percentages persisterend ESBL-dragerschap een half jaar tot een jaar na ontslag rechtvaardigen ons inziens, vooralsnog, de aanbeveling om dragers van ESBL-producerende *Enterobacteriaceae* bij heropname binnen een jaar direct weer in isolatie te verplegen. Screeningskweken zijn geïndiceerd alvorens de isolatiemaatregelen kunnen worden beëindigd. Echter, gezien de prevalentie van ESBL-dragerschap kan dit op korte termijn tot isolatie-capaciteitsproblemen leiden. Om dit te voorkomen zou in de toekomst een gedifferentieerder isolatiebeleid gevoerd kunnen worden, bijvoorbeeld op

basis van species (*Klebsiella pneumoniae* wel en *E. coli* niet in isolatie) en/of genotypering (*E. coli* ST131 wel en andere *E. coli* STs niet in isolatie). Er is echter meer onderzoek nodig om de bevindingen die een dergelijk beleid lijken te ondersteunen te bevestigen.^{12,13} Daarnaast zou de isolatienoodzaak met behulp van “snel-diagnostiek”, zoals chromogene agars, verlicht kunnen worden. Analoog aan de opgedane ervaring met MRSA¹⁴ zouden patiënten gekoloniseerd met ESBL bij heropname gescreend kunnen worden en zouden isolatiemaatregelen pas de volgende dag – bij aangetoond dragerschap – ingesteld kunnen worden.

Referenties

1. Reuland EA, Overdeest IT, Al Naiemi N, et al. High prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae carriage in Dutch community patients with gastrointestinal complaints. *Clin Microbiol Infect.* 2012; doi:10.1111/j.1469-0691.2012.03947.x.
2. Overdeest I, Willemsen I, Rijnsburger M, et al. Extended-spectrum beta-lactamase genes of *Escherichia coli* in chicken meat and humans, The Netherlands. *Emerg Infect Dis.* 2011;17:1216-22.
3. Werkgroep Infectiepreventie. Ziekenhuizen: Bijzonder resistente micro-organismen (BRMO). December 2012.
4. Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L, the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Management of Multidrug-Resistant Organisms In Healthcare Settings. Centers for Disease Control and Prevention 2006.
5. Alsterlund R, Carlsson B, Gezelius L, et al. Multiresistant CTX-M-15 ESBL-producing *Escherichia coli* in southern Sweden: Description of an outbreak. *Scand J Infect Dis.* 2009;41:410-5.
6. R, Axelsson C, Olsson-Liljequist B. Long-term carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Scand J Infect Dis.* 2012;44:51-4.
7. Zahar JR, Lanternier F, Mechai F, et al. Duration of colonisation by Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamase and risk factors for persistent faecal carriage. *J Hosp Infect.* 2010;75:76-8.
8. Titelman E, Iversen A, Kais M, Chowdhury MH, Kalin M. Duration of faecal carriage of ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* following first-time clinical infection, 22nd ECCMID, Abstract P1662. 2012;459.
9. Tangden T, Cars O, Melhus A, Lowdin E. Foreign travel is a major risk factor for colonization with *Escherichia coli* producing CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases: a prospective study with Swedish volunteers. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:3564-8.
10. Tham J, Walder M, Melander E, Odenholt I. Duration of colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in patients with travellers' diarrhoea. *Scand J Infect Dis.* 2012; doi:10.3109/00365548.2011.653582.
11. Bernards AT, Bonten MJM, Cohen Stuart J, et al. NVMM Guideline Laboratory detection of highly resistant microorganisms (HRMO), version 1.0, 2011. Netherlands Society for Medical Microbiology 2011.
12. Hilty M, Betsch BY, Bogli-Stuber K, et al. Transmission dynamics of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in the tertiary care hospital and the household setting. *Clin Infect Dis.* 2012;55:967-75.
13. Adler A, Gniadkowski M, Baraniak A, et al. Transmission dynamics of ESBL-producing *Escherichia coli* clones in rehabilitation wards at a tertiary care centre. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:E497-505.
14. Wassenberg M, Kluytmans J, Erdkamp S, et al. Costs and benefits of rapid screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage in intensive care units: a prospective multicenter study. *Crit Care.* 2012;16:R22.

Recommendations of the NVMM Guideline Laboratory detection of highly resistant microorganisms, 2.0 - MRSA

A.T. Bernards, M.J.M. Bonten, J. Cohen Stuart, B. Diederens, W.H.F. Goessens, H. Grundmann, J.A.J.W. Kluytmans, M.F.Q. Kluytmans-van den Bergh, M.A. Leverstein-van Hall, J.W. Mouton, N. al Naiemi, A. Troelstra, C.M.J.E. Vandenbroucke-Grauls, M.C. Vos, A. Voss

INLEIDING

Meticilline-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) heeft zich wereldwijd verspreid, niet alleen in gezondheidszorginstellingen, maar ook in de open bevolking en in de intensieve veehouderij. Efficiënte controle van MRSA in zorginstellingen is sterk afhankelijk van een adequate laboratoriumdetectie. De implementatie van snelle en accurate laboratoriumdetectiemethoden kan bijdragen aan het tijdig instellen van de juiste antimicrobiële therapie en infectiepreventiemaatregelen om de verspreiding van MRSA binnen zorginstellingen te voorkomen. Daarnaast kan het de duur van preëemptief ingestelde isolatiemaatregelen verkorten (snel), en voorkomen dat onnodig contactonderzoek wordt ingesteld (accuraat).

Het hoofdstuk MRSA van de NVMM-richtlijn Laboratoriumdetectie van bijzonder resistente microorganismen geeft aanbevelingen voor het juiste gebruik van de op dit moment beschikbare diagnostische laboratoriummethoden voor de snelle en accurate detectie van MRSA bij patiënten en gezondheidszorgmedewerkers. Hiermee beoogt de richtlijn laboratoriumprocedures voor de detectie van MRSA in de Nederlandse laboratoria voor medische microbiologie te standaardiseren en te verbeteren. De richtlijn is gericht op artsen-microbioloog, adviseurs infectiepreventie, microbiologisch analisten en medisch-microbiologische laboratoria die verantwoordelijk zijn voor de detectie van MRSA bij patiënten en gezondheidsmedewerkers in Nederland.

De richtlijn is ontwikkeld op initiatief van de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie (NVMM) en gedeeltelijk gefinancierd door de Stichting Kwaliteitsgelden Medisch Specialisten (SKMS). De werkgroep die de richtlijn heeft opgesteld bestaat uit artsen-microbioloog en medisch-microbiologen met aangetoonde deskundigheid op het gebied van de laboratoriumdetectie van antimicrobiële resistentie. Leden van de werkgroep vertegenwoordigen zowel universitaire als niet-universitaire centra uit verschillende regio's van Nederland.

De richtlijn bestaat op dit moment uit drie hoofdstukken: 1) *Staphylococcus aureus* – MRSA; 2) Enterobacteriaceae – ESBL; 3) Enterobacteriaceae – carbapenemases. Het hoofdstuk over de detectie van MRSA vervangt de eerdere NVMM-richtlijn voor detectie van MRSA (2002), en is goedgekeurd door de NVMM in haar algemene ledenvergadering van 15 november 2012.

J.A.J.W. Kluytmans, M.F.Q. Kluytmans, M.C. Vos, namens de werkgroep

Hierna volgt een overzicht van de belangrijkste aanbevelingen uit de richtlijn.

RECOMMENDATIONS

STAPHYLOCOCCUS AUREUS – methicillin resistance

Detection of carriage

- MRSA screening cultures should include a nasal swab (both anterior nares), a throat swab, and a perineal or rectal swab.
- Dependent on the clinical signs and age additional sites should be sampled.
- It is not recommended to culture insertion sites for the detection of MRSA carriage.
- A single set of specimens is sufficient for the targeted screening for MRSA carriage, provided that broth enrichment is used.
- Cultures for the detection of MRSA carriage in healthcare workers should be performed at the start of a working shift.

Correspondence: NVMM (Netherlands Society for Medical Microbiology), PO box 21020, 8900 JA Leeuwarden, the Netherlands, e-mail: bureau@nvmm.nl

- Patients that have been identified as MRSA carriers are considered to be at moderately elevated risk of persistent carriage (WIP risk category 3) when three culture sets, collected at least 7 days apart, and at least 48 hours after discontinuation of antibiotic therapy are negative. When an additional follow-up culture set taken after one year is still negative MRSA carriage is considered to be effectively cleared (WIP category 4).
- Swabs should be collected in an adequate transport medium (Amies or Stuart). The use of dry swabs is not recommended.
- It is recommended to process specimens as soon as possible but at least within 24 hours after sampling, and keep samples at 4-8°C until processing.
- The recommended strategy for the detection of methicillin resistance in *S. aureus* is a two-step procedure, and consists of a screening step followed by a genotypic confirmation step.
- Routine susceptibility test methods to screen for methicillin resistance are broth dilution, agar dilution, or an automated system.
- Oxacillin should be used as indicator beta-lactam in the screening for methicillin-resistance.
- The recommended MIC screening breakpoint for oxacillin is > 2 mg/L.
- It is recommended to use the cefoxitin disk diffusion method (incubation for 24 hours at 33-35°C), in addition to routine susceptibility test methods.
- The recommended zone diameter screening breakpoint for cefoxitin is < 22 mm.

Laboratory methods

- For targeted MRSA screening it is recommended to use relatively non-selective (salt only) broth enrichment in combination with the use of an MRSA screening agar.
- In case of urgency it is recommended to additionally perform rapid laboratory methods, such as direct molecular testing or direct plating of a MRSA screening agar.
- For chromogenic media the recommended incubation time is 48 hours.
- It is recommended to use a conventional solid agar medium as a growth control.
- MRSA cultures from non-sterile culture sites should be disapproved when the growth control is negative.
- It is recommended to perform identification and susceptibility testing of morphologically suspected *S. aureus* colonies that grow on the conventional medium but not on the selective medium.
- It is recommended to only use direct molecular detection methods to provisionally exclude MRSA carriage. Both positive and negative test results should be confirmed by conventional cultures.
- Direct molecular methods should accurately distinguish between MRSA and mixtures of methicillin-susceptible *S. aureus* with methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci in the sample.
- For patients it is recommended to use a separate swab for each culture site, and not to pool samples.
- For screening of healthcare workers it can be considered to use one swab to sample all three culture sites (nose, throat, and perineum), or to pool swabs. Once MRSA carriage is detected all sites should be sampled separately before treatment is initiated.
- Current routine identification methods for *S. aureus* should be used, as there are no indications that the identification of *S. aureus* is different for methicillin-susceptible or -resistant strains.
- For newly detected MRSA carriers, it is recommended to confirm the species identification by molecular methods.
- *S. aureus* strains that are oxacillin-resistant and are negative in the conventional *mecA* gene detection should be tested for the presence of *mecA*_{LGA251}.
- PCR based methods should be used for the detection of the *mecA* gene.
- All index strains of newly recognised MRSA carriers should be sent to the National Institute for Public Health and the Environment (RIVM) for genotypic confirmation of the presence of the *mecA* gene and genotyping.
- The following strains are recommended for quality control: *S. aureus* ATCC 33593 (methicillin-resistant); and *S. aureus* 29213 (methicillin-susceptible).

Contact tracing

- For contact tracing it is recommended to confirm that the methods used for targeted screening are able to detect the 'known' strain.
- It is recommended to compare MRSA isolates that are detected in contact patients to the isolate of the index patient by (geno)typing of strains.

Reporting

- Growth control results should be reported in the laboratory system as either 'growth' or 'no growth'.
- Direct molecular test results should be reported in the laboratory system as either 'MRSA-positive', 'invalid' or 'MRSA-negative'.
- Genotypic MRSA confirmation test results should be reported in the laboratory system as either 'MRSA-positive' or 'MRSA-negative'.
- MRSA negative cultures from non-sterile culture sites with a negative growth control should be reported in the patient information system as 'results not reliable, repeat culture'.
- Rapid test results (direct molecular testing or direct MRSA screening agar) should be reported in the patient information system on a patient level.

- Direct molecular test results should be reported in the patient information system as ‘not suspected for MRSA, await standard culture for final results’ if the nasal culture is negative, and either the throat culture or the perineal culture is negative, and all other sites have a negative or invalid test result. All other direct molecular test results should be reported as ‘suspected for MRSA, await standard culture for final results’.
- Direct MRSA screening agar results should be reported in the patient information system as ‘MRSA positive’ if at least one clinical specimen has a positive test result. All other direct MRSA screening agar results should be reported as ‘not suspected for MRSA, await standard culture for final results’. Results should be reported to the treating physician as soon as results are available to prevent delay in adequate treatment and infection control measures.
- Confirmed MRSA-negative test results should be reported in the patient information system as ‘MRSA-negative’. The antibiogram to be reported should be in accordance with the MICs determined for the antimicrobial agents tested, without further adjustments.
- Confirmed MRSA-positive test results should be reported in the patient information system as ‘MRSA-positive’. The antibiogram to be reported should be in accordance with the EUCAST clinical breakpoints. However, isolates should be reported as resistant to all beta-lactam antibiotics, irrespective of the MICs measured. It is recommended to provide a warning that treatment should be performed in consultation with a clinical microbiologist or an infectious diseases consultant.
- MRSA test results should be reported to the treating physician as soon as results are available.

Quality indicators

- It is recommended to document LTAT (provisional and final) for all targeted MRSA screening cultures and for all clinical cultures that grow oxacillin/cefoxitin resistant *S. aureus*.
- It is recommended to periodically monitor (provisional and final) LTAT for both MRSA-positive and MRSA-negative cultures.
- Recommended measures for monitoring are the mean, median, and 90 percentile of LTAT.
- It is recommended to monitor and investigate outliers of LTAT.

Kinkhoestserologie

J.F.P. Schellekens

Trefwoorden

Kinkhoest, serodiagnose, IgG, IgA, pertussistoxine, afkapwaarden

Inleiding

Ondanks nationale vaccinatie van kinderen tegen kinkhoest sinds 1953 is er een relatief hoge incidentie van infecties met *Bordetella pertussis*. Door analyse van distributies van pertussis-antistoffen in verschillende leeftijdscategorieën in bevolkingssera uit 1995-1996 en 2006-2007, is het aannemelijk gemaakt dat onder personen ouder dan 9 jaar de jaarlijkse incidentie van infecties met *Bordetella pertussis* in de loop van ruim 10 jaar is toegenomen van circa 4% naar circa 9% per jaar.¹ Een groot deel van die infecties verloopt asymptomatisch of zeer mild symptomatisch (hoesten zonder specifieke kenmerken), een klein deel verloopt ernstiger en typisch (uitputtende aanvallen van 'expiratoir' hoesten, ook 's nachts, met vaak braken na de hoestaanval). Persistentie van circulatie van *B.pertussis* ondanks nationale vaccinatie is een gevolg van enerzijds de zeer hoge besmettelijkheid van *B.pertussis* en anderzijds het feit dat vaccin-geïnduceerde immuniteit niet absoluut is, ook niet kort na completering van vaccinatie, met aanzienlijke en doorgaande afname daarvan in de jaren daarna. Pathoëenadaptatie speelt daarbij ook een rol.² Na infectie houdt immuniteit langer aan maar ook dan is deze tijdelijk.^{3,4} De hoge circulatie van de pathoëen is een bedreiging voor niet of onvolledig gevaccineerde zuigelingen, voor wie kinkhoest zeer ernstig en zelfs lethaal kan zijn.³

De gouden standaard voor laboratoriumdiagnostiek van infectie met *B.pertussis* is kweek van de bacterie uit nasofaryngeaal materiaal, die echter in nog maar weinig laboratoria routinematig wordt uitgevoerd. Pertussis-PCR is aanzienlijk gevoeliger gebleken.⁵ Voor zowel pertussis-PCR als voor kweek van *B.pertussis* geldt dat de gevoeligheid in de loop van de ziekte snel afneemt, maar ook bij nog korte ziekteduur is de gevoeligheid suboptimaal, vooral bij oudere kinderen en volwassenen, en sluit een negatief resultaat de diagnose niet uit.⁵ Serologie is de meest gevoelige laboratoriummethode voor diagnose van kinkhoest. Omdat de ontwikkeling van de humorale immuunrespons echter vaak enkele weken vergt, wordt optimale sensitiviteit pas relatief laat in het ziektebeloop

bereikt.^{6,5} Er is inmiddels internationaal brede consensus dat het meten van IgG-antistoffen tegen pertussistoxine (IgG-Ptx) de beste methode is.⁷ Een internationaal IgG-Ptx-standaardserum is commercieel beschikbaar, waardoor uniforme quantificering in "IU/ml" mogelijk is.⁸ Serodiagnose is gebaseerd op een significante toename van IgG-Ptx in gepaarde sera of op een uitzonderlijk hoge concentratie IgG-Ptx in een enkel serum.^{7,9} Hoge concentraties van IgG-Ptx zijn diagnostisch omdat de piekwaarden geïnduceerd door infectie relatief kort persisteren.^{6,9-11} Interferentie van de hoge IgG-Ptx-waarden geïnduceerd door vaccinatie van kinderen met acellulaire pertussis-vaccins is beperkt omdat ook vaccineïnduceerde piekwaarden relatief kort persisteren.¹²⁻¹⁷ Men moet zich wel realiseren dat serologie op basis van Ptx-antistoffen infecties met *B. parapertussis* en *B. holmesii*, die dezelfde symptomen kunnen geven (zij het minder ernstig), niet detecteert.

Er is geen consensus over diagnostische afkapwaarden. Voor dynamiek van IgG-Ptx in gepaarde sera variëren voorgestelde diagnostische afkapwaarden tussen een anderhalfvoudige tot een viervoudige toename.^{9,18-21} Voor absolute waarde in een enkelvoudig serum variëren de voorgestelde diagnostische afkapwaarden tussen 50 en 200 IU/ml.^{9,22-26}

In Nederland zijn de laatste jaren verschillende studies gedaan die aangeven hoe kinkhoestserologie in het eigen laboratorium kan worden verricht en welke diagnostische afkapwaarden men kan toepassen.

IgG-Ptx

In eerder Nederlands onderzoek waren IgG-Ptx-waarden gemeten met een in house-ELISA van het RIVM.²⁷ In die ELISA werd een eigen IgG-Ptx-standaardserum gebruikt met een eigen concentratiedefinitie (rivm-U/ml) die afweek van die van het latere internationale IgG-Ptx standaardserum (IU/ml). Afkapwaarden van 50 en 100 rivm-U/

Dr. J.F.P. Schellekens, arts-microbioloog, Laboratorium voor Infectieziekten, Groningen, e-mail: j.schellekens@infectielab.nl

ml hadden een specificiteit (in 7756 bevolkingssera) van respectievelijk 96,4 en 99,2% en een sensitiviteit (in tweede sera van serumparen van 3491 patiënten, verdacht voor kinkhoest, met een ≥ 4 -voudige IgG-Ptx-titerstijging) van respectievelijk 92,7 en 81%.⁹ Analyse van het longitudinale beloop van IgG-Ptx na infectie in vervolgsersa van patiënten met klinisch en serologisch gedocumenteerde kinkhoest (57 patiënten, minimaal twee en maximaal zeven sera per patiënt, bij wie het laatste serum tussen vijf maanden en zeven jaar na de kinkhoest was afgenomen) gaf aan dat vijf maanden na het begin van de ziekte de prevalentie van IgG-Ptx waarden > 50 en > 100 rivm-U/ml respectievelijk 100 en 90% was, na 12 maanden 60 en 20%, na 23 maanden 28 en 16% en na drie jaar 14 en 7%. In sera afgenomen meer dan drie jaar na kinkhoest waren IgG-Ptx-waarden in alle gevallen < 50 rivm-U/ml en in 90% van de sera was de waarde < 20 IU/ml.⁶ In deze studie was aangenomen dat een ≥ 4 -voudige IgG-Ptx-stijging in gepaarde sera de diagnose kinkhoest met zekerheid bevestigde. Als diagnostische afkapwaarde in enkelvoudige sera werd 100 rivm-IU/ml gekozen vanwege de hoge specificiteit van circa 99%. Waarden tussen 50 en 100 IU/ml werden als 'verdacht maar niet definitief diagnostisch' aangemerkt; onderzoek van een tweede serum was dan aangewezen. In gepaarde sera van 89 patiënten met positieve kweek van *B. pertussis* en/of positieve pertussis-PCR van nasopharyngeaal materiaal was de gevoeligheid van de combinatie van die serodiagnostische criteria (IgG-Ptx-stijging in gepaarde (meer dan) viervoudig en/of IgG-Ptx-waarde in enkelvoudig serum > 100 rivm-U/ml) 94%.⁹

IgG, IgA en commerciële ELISA's

In alle bovengenoemde sera waren in de in house-ELISA van RIVM ook IgA-antistoffen tegen gesonificeerde cellen van *B. pertussis* (IgA-Bp) gemeten.²⁸ Mede omdat de IgA-Bp ELISA van RIVM in geen enkel ander laboratorium beschikbaar was, zijn de resultaten daarvan niet gepubliceerd. Uit genoemde metingen bleek dat IgA-Bp als 'stand alone' diagnostische parameter niet goed bruikbaar was omdat zij aanzienlijk minder gevoelig en specifiek was dan IgG-Ptx. Jonge kinderen hadden vaak een geringe of zelfs afwezige IgA-Bp-respons. In de 7756 bevolkingssera namen de prevalentie en de hoogte van IgA-Bp-concentraties toe met de leeftijd. Omdat de IgA-Bp van belang werd geacht omdat vaccinatie tegen kinkhoest IgG-Ptx kan induceren maar geen IgA-Bp²⁸ is het RIVM voor routinematige serodiagnostiek van kinkhoest zowel de IgG-Ptx als de IgA-Bp ELISA blijven gebruiken. Daartoe werden aan combinaties van IgG-Ptx- en IgA-Bp-concentraties hoogtecategoriën toebedeeld.²⁹ Diagnostische afkapwaarden voor die hoogtecategoriën waren leeftijdsafhankelijk wegens de leeftijdsafhankelijkheid van IgA-Bp, en waren, net als die voor IgG-Ptx, gekozen op basis van een specificiteit van 99% in bevolkingssera.

De enige publicatie waarin naast de IgG-Ptx van RIVM ook de IgA-Bp van RIVM figureerde, betrof een onderzoek dat werd uitgevoerd ter validatie van commerciële kinkhoest ELISA's.³⁰ In die commerciële ELISA's werden zowel pertussistoxine (Ptx) als filamenteus hemagglutine (FHA) of een mengsel daarvan (FHA/Ptx) als coatingantigeen gebruikt en werden zowel IgG als IgA gemeten. Metingen werden verricht in gepaarde sera van 41 patiënten met PCR-bewezen kinkhoest, in gepaarde sera van 65 patiënten met een serologische diagnose van andere, voornamelijk respiratoire, infecties en in 26 enkelvoudige sera die positief waren voor IgM tegen EBV of voor reumafactor. Metingen met IgG ELISA's leverden een aanzienlijk beter onderscheid tussen kinkhoestpatiënten en controles dan IgA-ELISA's; jonge kinderen hadden vaak een geringe of zelfs afwezige IgA-respons; in de controles namen de prevalentie en de hoogte van IgA-antistoffen tegen de verschillende antigenen van *B. pertussis* toe met de leeftijd. Binnen de IgG ELISA's gaven de drie IgG-Ptx ELISA's (een van RIVM, twee commercieel) een beter onderscheid tussen kinkhoestpatiënten en controles dan de twee IgG-FHA/Ptx ELISA's en de IgG-FHA ELISA (alle commercieel). Het onderscheidend vermogen van de drie IgG-Ptx ELISA's was onderling identiek. Binnen de vijf onderzochte kits (één kit van RIVM: IgG-Ptx en IgA-Bp; vier commerciële kits: twee met IgG-FHA/Ptx en IgA-FHA/Ptx, één met IgG-Ptx en IgA-Ptx, en één met IgG-Ptx, IgA-Ptx, IgG-FHA en IgA-FHA) gaf combinatie van de IgG en IgA parameter(s) geen beter onderscheid dan de IgG-parameter alleen.

Heel opvallend was dat bij ieder van de commerciële kits de diagnostische afkapwaarden van de fabrikant zodanig slecht gekozen waren dat deze in een onacceptabel lage specificiteit resulteerden (variërend van 30 tot 78%). De diagnostische afkapwaarden van de RIVM ELISA's daarentegen bleken in deze patiënten en controles optimaal te presteren, met een specificiteit voor de afkapwaarden van zowel IgG-Ptx als van de combinatie van IgG-Ptx en IgA-Bp van $> 95\%$.³⁰

Onze conclusie was dat gebruik van andere antigenen dan Ptx en gebruik van IgA-parameters het oplossend vermogen van de serodiagnostiek van kinkhoest niet verbetert en onnodige complexiteit introduceert met name wat betreft de mogelijkheden voor standaardisering en de noodzaak van leeftijdsafhankelijke criteria. Daar stond tegenover dat commerciële IgG-Ptx ELISA's even goed onderscheid tussen kinkhoestpatiënten en controles konden maken als IgG-Ptx ELISA van RIVM. Echter, toepasbaarheid van de commerciële IgG-Ptx ELISA werd ernstig belemmerd doordat standaardisatie en/of de juiste interpretatiecriteria ontbraken.

Deze uitkomsten benadrukten het belang van internationale standaardisatie van diagnostische IgG-Ptx ELISA's. Tussentijds was de RIVM IgG-Ptx ELISA vergeleken met internationaal gestandaardiseerde IgG-Ptx ELISA's.

Er was een goede correlatie. De waarde 100 rivm-U/ml kwam overeen met 125 IU/ml.³¹ In oktober 2003 is het RIVM ertoe overgegaan om het internationale IgG-Ptx-standaardserum van FDA-USA te gaan gebruiken, zodat de uitkomsten van de IgG-Ptx ELISA van RIVM voortaan konden worden uitgedrukt in IU/ml.⁸ Fabrikanten van commerciële IgG-Ptx ELISA's werd geadviseerd diezelfde route te kiezen.

Problemen met de interpretatie en validatie van kinkhoestserologie

Voor twee problemen bij interpretatie en validatie van kinkhoestserologie hebben we geprobeerd een oplossing te zoeken. Die problemen zijn:

1. Er is mogelijk onderschatting van de specificiteit van de diagnostische cutoff voor absolute IgG-Ptx-waarden in enkelvoudige sera. Immers, de specificiteit van 99% van de gekozen cutoff van 125 IU/ml was vastgesteld in bevolkingssera, terwijl het waarschijnlijk is, gezien de mate van circulatie van *B.pertussis* in de bevolking, dat een (klein) deel van die bevolking waaruit die sera werden betrokken 'patient' in plaats van 'controle' was op moment van serumafname, dat wil zeggen op dat moment een (al dan niet symptomatische) infectie met *B.pertussis* had of recent had gehad.
2. De diagnostische cutoff van een (meer dan) viervoudige stijging van IgG-Ptx in gepaarde sera is mogelijk overdreven hoog. Immers, in ELISA's met een interassay coëfficiënt van variatie van < 30% (zoals de IgG-Ptx ELISA) is ook een tweevoudige of zelfs anderhalvfoudige stijging in gepaarde sera 'significant' maar is zo'n beperkte stijging ook kenmerkend voor een specifieke immuunrespons?

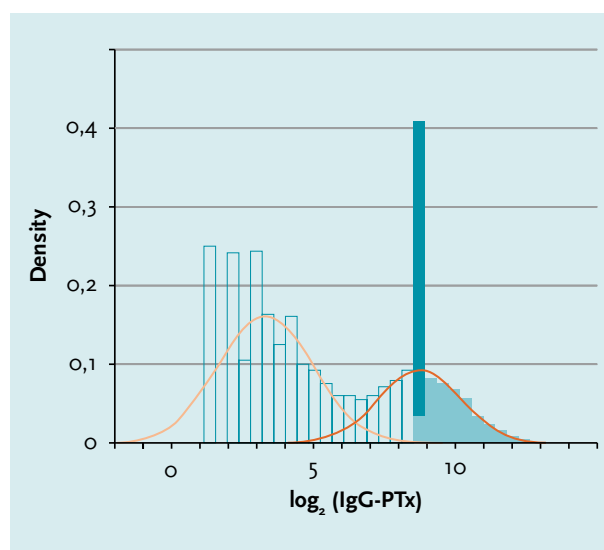
Analyse van een database van kinkhoestserologie

Wij meenden inzicht in bovengenoemde problemen te kunnen verkrijgen door gebruik te maken van de IgG-Ptx-gegevens van sera van patiënten verdacht voor kinkhoest die waren ingezonden naar RIVM voor kinkhoestserologie. We postuleerden dat tweecomponenten-clusteranalyse van de absolute IgG-Ptx-waarden in enkelvoudige sera in die serodiagnostische database twee onderscheidende gaussische verdelingen zouden laten zien waarvan de laagste verdeling ('negative component') sera zou omvatten van patiënten zonder (immuunrespons inducerende) infectie met *B.pertussis* (c.q. met een andere oorzaak voor de klachten) en de hoogste verdeling ('positive component') sera zou omvatten van patiënten mét immuunrespons inducerende infectie met *B.pertussis* (c.q. met symptomatische infectie met *B.pertussis*). Dezelfde hypothese werd geformuleerd voor dynamiek van IgG-Ptx in gepaarde sera. De analyse werd verricht met sera die waren ingezonden tussen 1 oktober 2003 en 31 december 2009 en de resultaten zijn recent gepubliceerd.³²

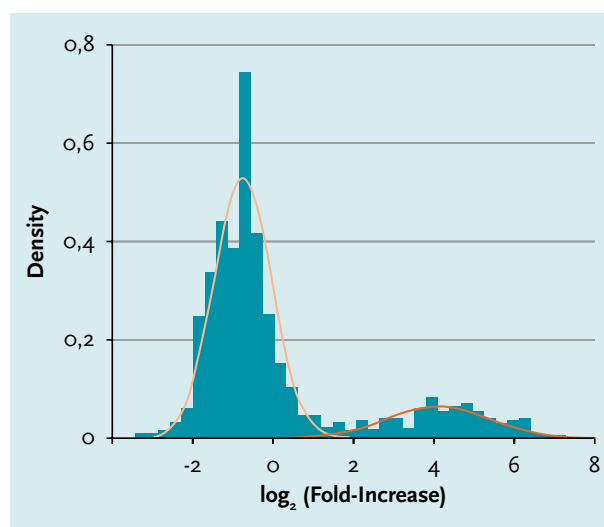
Tweecomponentenanalyse van absolute IgG-Ptx-waarden in enkelvoudige sera

Tweecomponentenanalyse van absolute IgG-Ptx-waarden in 14.452 enkelvoudige sera van patiënten verdacht voor kinkhoest leverde een scherpe verdeling tussen lage en hoge waarden op (figuur 1A), die resulteerde in een ROC-curve (figuur 2A) met een zeer hoge AUC-waarde van 0,993 en een 'optimum' afkapwaarde (de afkapwaarde met de hoogste cumulatieve sensitiviteit + specificiteit) van

Figuur 1A. Verdeling van of \log_2 (IgG-Ptx)-concentraties in enkelvoudige sera (kolommen) verkregen binnen 100 dagen na begin van ziekte ($n = 14.452$), en de geschatte negatieve (lichtoranje lijn) en positieve (donkeroranje lijn) componenten. De donkerblauwe kolom geeft de gecensureerde data (i.e. afgeknotte als > 400 IU/ml), de lichtblauwe kolommen geven hun veronderstelde verdeling (zie tekst voor verdere verklaring).



Figuur 1B. Verdeling van de \log_2 (aantal malen stijging) in gepaarde sera met een IgG-Ptx concentratie tussen 5 and 25 IU/ml in het eerste serum ($n = 1.316$). De lijnen geven de geschatte negatieve (lichtoranje lijn) en positieve (donkeroranje lijn) component.



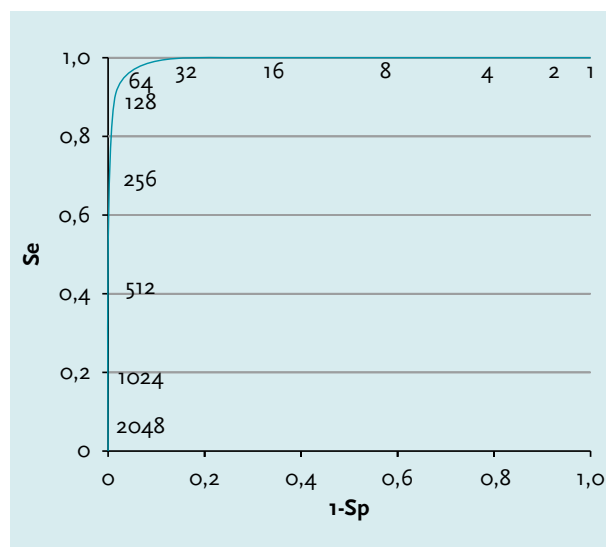
67,7 IU/ml (sensitiviteit 96,4%, specificiteit 95,7%). De afkapwaarde van 125 IU/ml was geassocieerd met een sensitiviteit van 88,1% en een specificiteit van 98,8%. In Nederlandse bevolkingssera die waren afgenomen in 2006-2007 (dat is in een periode die valt binnen de periode waarin de hier geanalyseerde sera zijn afgenomen) was de afkapwaarde van 125 IU/ml geassocieerd met een specificiteit van 96,6%.¹ Dat de specificiteit van de afkapwaarde 125 IU/ml die werd gevonden in de tweecomponentenanalyse (98,8%) hoger was dan in bevolkingssera (96,6%), bevestigde onze vooronderstelling dat deze benadering minder onderschatting geeft van specificiteit dan gebruik van bevolkingssera. Overigens, om tot dit resultaat te komen is het wel nodig geweest een oplossing te vinden voor het feit dat de IgG-Ptx ELISA door het gebruik van slechts twee verdunningen van patiëntensera een beperkte kwantificeerbaarheidsbereik van 1-400 IU/ml heeft. Waarden boven 400 IU/ml kunnen in de ELISA wegens 'OD verzadiging' niet nader kwantitatief gedifferentieerd worden (donkere balk in *figuur 1A*). De distributie van die hoge waarden moest daarom worden afgeleid van de distributie van IgG-Ptx-waarden in 56 sera met waarden boven 400 IU/ml waarin de precieze waarde was bepaald door volledige uittitratie (zie voor details, ref. 32).

Tweecomponentenanalyse van dynamiek van IgG-Ptx in gepaarde sera

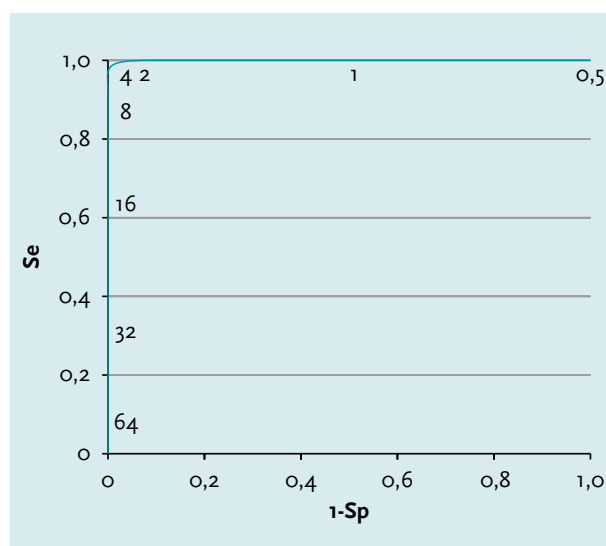
Voor tweecomponentenanalyse van IgG-Ptx-dynamiek in gepaarde sera waren 2.455 serumparen beschikbaar. Het scherpste onderscheid tussen verdelingen van lage en hoge dynamiek van IgG-Ptx werd a priori verwacht in de 1.316 serumparen waarvan het eerste serum een detecteerbare maar lage IgG-Ptx-concentratie bevatte. De resultaten in die subgroep zijn te zien in de *figuren 1B* en *2B*. De AUC van de ROC-curve was 0,999 en de optimum afkapwaarde was een 3,1-voudige stijging (specificiteit 99,2%, sensitiviteit 99,6%). De specificiteit van afkapwaarde van viervoudig stijging was 99,9%. Men kan dus overwegen de diagnostische afkapwaarde voor dynamiek te verlagen van viervoudig naar drievoudig; de specificiteit is dan nog 99%. Vanwege minder goede reproduceerbaarheid van de laagste waarden in IgG-Ptx ELISA's is het verstandig additioneel de eis te stellen dat de stijging moet leiden tot een waarde van > 20 IU/ml in het tweede serum. Tweecomponentenanalyse van gepaarde sera met in het eerste serum IgG-Ptx tussen 25 en 100 IU/ml gaf een vrijwel identiek scherp onderscheid tussen een negatieve en positieve component met vrijwel gelijke optimum afkapwaarde.³²

Gebruik van een lagere afkapwaarde dan drievoudig, bijvoorbeeld twee- of anderhalfvoudig, zoals door andere voorgesteld of gehanteerd,¹⁸⁻²¹ is volgens deze resultaten niet correct. Dergelijke veranderingen zijn wel 'significant' (reproduceerbaar meetbaar) maar blijken niet karakter-

Figuur 2A. ROC-curve voor het model geschat in *figuur 1A* (absolute waarden van IgG-Ptx in enkelvoudige sera).



Figuur 2B. ROC-curve voor het model geschat in *figuur 1B* (toenames van IgG-Ptx in gepaarde sera).



Se = sensitiviteit; 1-Sp = 1-specificiteit. *Figuur 1A*, *1B*, *2A* en *2B* zijn met toestemming overgenomen uit ref. 32.

ristiek te zijn voor een specifieke immuunrespons. Men moet zich realiseren dat de 'negatieve' component in deze studie patiënten omvat met luchtweginfecties door andere pathogenen dan *B.pertussis* of met hoestklachten door niet-infectieuze aandoeningen. In dergelijke omstandigheden kunnen IgG-Ptx-waarden kennelijk op korte termijn behoorlijk variëren, zowel omhoog als omlaag, door andere mechanismen dan een specifiek immuunrespons. Men kan denken aan bijvoorbeeld algemene immuunsuppressie en immuunstimulatie, en veranderingen in distributie-

volume van totaal IgG. Voorzover ik heb kunnen nagaan is dit de eerste keer dat een diagnostische afkapwaarde voor een specifieke immuunrespons wordt vastgesteld aan de hand van vergelijkend onderzoek tussen patiënten (positieve component) en controles (negatieve component) in plaats van op grond van theoretische aannames.

Toepassing in de praktijk

In het eigen laboratorium kan een commerciële IgG-Ptx ELISA gebruikt worden die gekalibreerd is met het internationale IgG-Ptx-standaardserum en waarvan de resultaten worden uitgedrukt in IU/ml. Onafhankelijke kwaliteitscontrole kan dan gemakkelijk geschieden door vergelijking met de internationaal gestandaardiseerde IgG-Ptx ELISA van een referentielaboratorium. Een essentieel voordeel is ook dat men bij gebruik van zo'n ELISA niet afhankelijk is van interpretatiecriteria van de fabrikant. Men kan de eigen interpretatiecriteria afleiden van de hier gepresenteerde gegevens. Voor eventuele IgA-Ptx-componenten in commerciële ELISA's bestaan geen goed gevalideerde interpretatiecriteria (ook al geeft een fabrikant interpretatiecriteria) en verantwoord gebruik daarvan is niet mogelijk.

In bovengenoemde tweecomponentenanalyse van sera van patiënten verdacht voor kinkhoest wordt de *sensitiviteit* van diagnostische afkapwaarden hoogstwaarschijnlijk overschat omdat mogelijk niet alle patiënten met *B.pertussis*-infectie een IgG-Ptx-respons hebben^{5,9} en dergelijke patiënten zijn in die analyse niet onderscheidbaar c.q. vervat in de 'negatieve component'. Daarentegen is de vaststelling van *specificiteit* van afkapwaarden nauwkeuriger dan voorheen, zowel voor absolute waarden als voor dynamiek. Op basis van die resultaten zou ik willen voorstellen om ten aanzien van bepalingen in enkelvoudige sera bij IgG-Ptx-waarden < 62 IU/ml, te melden dat de waarden vallen binnen de normale spreiding en dat infectie met *B.pertussis* daarmee niet is aangetoond noch is uitgesloten (wegens de vaak trage immuunrespons) en dat onderzoek van een tweede serum noodzakelijk is. Bij waarden tussen 62 en 125 IU/ml (equivalent aan de eerdere range van 50 tot 100 rivm-U/ml) kan men melden dat deze beschouwd kunnen worden als 'verdacht maar niet definitief diagnostisch voor actuele of zeer recente infectie met *B.pertussis*' en dat onderzoek van een tweede serum is aangewezen voor verkrijging van meer zekerheid. Bij waarden > 125 IU/ml kan men melden dat deze diagnostisch zijn voor actuele of zeer recente infectie met *B.pertussis* (specificiteit vrijwel 99%), tenzij binnen zes maanden een 4 of 5 vaccinatie met acellulair kinkhoestvaccin is gegeven. Ten aanzien van IgG-Ptx-dynamiek in gepaarde sera kan een (meer dan) drievoudige stijging tot > 20 IU/ml benoemd worden als diagnostisch voor actuele infectie met *B.pertussis*.

Het is wel zo dat recent is vastgesteld¹⁰ dat het verval van IgG-Ptx geïnduceerd door boostervaccinatie van

volwassenen met acellulair pertussisvaccin ongeveer twee keer langzamer is dan na vaccinatie van kinderen en na infectie met *B.pertussis*. In Nederland zijn boostervaccinaties na de kindertijd nog zeldzaam maar de toepassing daarvan kan gaan toenemen en bij de serologische diagnose van kinkhoest c.q. symptomatische infectie met *B.pertussis*, zal men daar dan rekening mee moeten houden.

Ter nagedachtenis aan Marcel Peeters.

Referenties

1. de Greeff SC, de Melker HE, van Gageldonk PG, Schellekens JF, van der Klis FR, Mollema L, Mooi FR, Berbers GA. 2010. Seroprevalence of pertussis in The Netherlands: evidence for increased circulation of *Bordetella pertussis*. *PLoS One* 5:e14183.
2. Mooi FR. *Bordetella pertussis* and vaccination: the persistence of a genetically monomorphic pathogen. *Infect Genet Evol* 2010;10:36-49.
3. Schellekens J, von König CH, Gardner P. Pertussis sources of infection and routes of transmission in the vaccination era. *Pediatr Infect Dis J*. 2005;24:S19-S24.
4. Versteegh FGA, Schellekens JFP, Nagelkerke AF, Roord JJ. Laboratory-confirmed reinfections with *Bordetella pertussis*. *Acta Paediatr* 2002;91:95-9.
5. Zee van der A, Agterberg C, Peeters M, Mooi F, Schellekens J. A clinical validation of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* polymerase chain reaction: comparison with culture and serology using samples from patients with suspected whooping cough from a highly immunized population. *J Infect Dis*. 1996;174:89-96.
6. Versteegh FG, Mertens PL, de Melker HE, Roord JJ, Schellekens JF, Teunis PF. Age-specific long-term course of IgG antibodies to pertussis toxin after symptomatic infection with *Bordetella pertussis*. *Epidemiol Infect*. 2005;133:737-48.
7. Guiso N, Berbers G, Fry NK, He Q, Riffelmann M, Wirsing von König CH. What to do and what not to do in serological diagnosis of pertussis: recommendations from EU reference laboratories. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011;30:307-12.
8. Xing D, Wirsing von König CH, Newland P, Riffelmann M, Meade BD, Corbel M, Gaines-Das R. Characterization of reference materials for human antiserum to pertussis antigens by an international collaborative study. *Clin Vaccine Immunol*. 2009;16:303-11.
9. de Melker HE, Versteegh FG, Conyn-Van Spaendonck MAE, Elvers LH, Berbers GAM, van Der Zee A, Schellekens JFP. Specificity and sensitivity of high levels of immunoglobulin G antibodies against pertussis toxin in a single serum sample for diagnosis of infection with *Bordetella pertussis*. *J Clin Microbiol*. 2000;38:800-6.
10. Dalby T, Petersen JW, Harboe ZB, Krogfelt KA. Antibody responses to pertussis toxin display different kinetics after clinical *Bordetella pertussis* infection than after vaccination with an acellulair pertussis vaccine. *J Med Microbiol*. 2010;59:1029-36.
11. Teunis PF, van der Heijden OG, de Melker HE, Schellekens JF, Versteegh FG, Kretzschmar ME. Kinetics of the IgG antibody response to pertussis toxin after infection with *B. pertussis*. *Epidemiol Infect*. 2002;129:479-89.
12. Edelman K, He Q, Makinen J, Sahlberg A, Haanpera M, Schuerman L, Wolter J, Mertsola J. Immunity to pertussis 5 years after booster immunization during adolescence. *Clin Infect Dis*. 2007;44:1271-7.
13. Guiso N, Njamkepo E, Vie le Sage F, Zepp F, Meyer CU, Abitbol V, Clyti N, Chevallier S. Long-term humoral and cell-mediated immunity after acellulair pertussis vaccination compares favourably with whole-cell vaccines 6 years after booster vaccination in the second year of life. *Vaccine*. 2007;25:1390-7.
14. Hendriks LH, Schure RM, Ozturk K, de Rond LG, de Greeff SC, Sanders EA, Berbers GA, Buisman AM. Different IgG-subclass distributions after whole-cell and acellulair pertussis infant primary vaccinations in healthy and pertussis infected children. *Vaccine*. 2011;29:6874-80.

15. Le T, Cherry JD, Chang SJ, Knoll MD, Lee ML, Barenkamp S, Bernstein D, Edelman R, Edwards KM, Greenberg D, Keitel W, Treanor J, Ward JI. Immune responses and antibody decay after immunization of adolescents and adults with an acellular pertussis vaccine: the APERT Study. *J Infect Dis.* 2004;190:535-44.
16. Mertsola J, Van Der Meeren O, He Q, Linko-Parvinen A, Ramakrishnan G, Mannermaa L, Soila M, Pulkkinen M, Jacquet JM. Decennial administration of a reduced antigen content diphtheria and tetanus toxoids and acellular pertussis vaccine in young adults. *Clin Infect Dis.* 2010;51:656-62.
17. Ward JI, Cherry JD, Chang SJ, Partridge S, Keitel W, Edwards K, Lee M, Treanor J, Greenberg DP, Barenkamp S, Bernstein DI, Edelman R. Bordetella Pertussis infections in vaccinated and unvaccinated adolescents and adults, as assessed in a national prospective randomized Acellular Pertussis Vaccine Trial (APERT). *Clin Infect Dis.* 2006;43:151-7.
18. Andre P, Caro V, Njamkepo E, Wendelboe AM, Van Rie A, Guiso N. Comparison of serological and real-time PCR assays to diagnose Bordetella pertussis infection in 2007. *J Clin Microbiol.* 2008;46:1672-7.
19. Aoyama T, Kato T, Takeuchi Y, Kato K, Morokuma K, Hirai T. Simple, speedy, sensitive, and specific serodiagnosis of pertussis by using a particle agglutination test. *J Clin Microbiol.* 1997;35:1859-61.
20. Hallander HO. Microbiological and serological diagnosis of pertussis. *Clin Infect Dis.* 1999;28 Suppl 2:S99-106.
21. Simondon F, Iteanu I, Preziosi MP, Yam A, Guiso N. Evaluation of an immunoglobulin G enzyme-linked immunosorbent assay for pertussis toxin and filamentous hemagglutinin in diagnosis of pertussis in Senegal. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1998;5:130-4.
22. Baughman AL, Bisgard KM, Edwards KM, Guris D, Decker MD, Holland K, Meade BD, Lynn F. Establishment of diagnostic cutoff points for levels of serum antibodies to pertussis toxin, filamentous hemagglutinin, and fimbriae in adolescents and adults in the United States. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2004;11:1045-53.
23. Horby P, Macintyre CR, McIntyre PB, Gilbert GL, Staff M, Hanlon M, Heron LG, Cagney M, Bennett C. A boarding school outbreak of pertussis in adolescents: value of laboratory diagnostic methods. *Epidemiol Infect.* 2005;133:229-36.
24. Marchant CD, Loughlin AM, Lett SM, Todd CW, Wetterlow LH, Bicchieri R, Higham S, Etkind P, Silva E, Siber GR. Pertussis in Massachusetts, 1981-1991: incidence, serologic diagnosis, and vaccine effectiveness. *J Infect Dis.* 1994;169:1297-305.
25. Wirsing von Konig CH, Gounis D, Laukamp S, Bogaerts H, Schmitt HJ. Evaluation of a single-sample serological technique for diagnosing pertussis in unvaccinated children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1999;8:341-5.
26. Yih WK, Lett SM, des Vignes FN, Garrison KM, Sipe PL, Marchant CD. The increasing incidence of pertussis in Massachusetts adolescents and adults, 1989-1998. *J Infect Dis.* 2000;182:1409-16.
27. Nagel J, de Graaf S, Schijf-Evers D. Improved serodiagnosis of whooping cough caused by Bordetella pertussis by determination of IgG anti-LPF antibody levels. *Dev Biol Stand.* 1985; 61:325-30.
28. Nagel J, Poot-Scholten EJ. Serum IgA antibody to Bordetella pertussis as an indicator of infection. *J Med Microbiol.* 1983;16:417-26.
29. Schellekens JFP, de Melker HE, Conyn van Spaendonck MAE. De laboratorium-diagnostiek en de aangifte van kinkhoest: een grillige pas de deux. *Ned Tijdsch Med Microbiol* 1996;4(5):93-6.
30. Schellekens JFP, Boshuizen HC, Verrbakel JMM, Elvers LH, Boshuis GL, Houte AJ van, Meijer BC, Peeters MF. Serodiagnosis of pertussis with commercial ELISA's. ICAAC, Chicago USA, 2001, abstractbook page 163, abstract number D-143. (Uitgebreid verslag met tabellen en figuren opvraagbaar via j.schellekens@infectielab.nl).
31. Giammanco A, Chiarini A, Maple PA, Andrews N, Pebody R, Gay N, Olander RM, Fivet-Groyne F, Baron S, Tischer A, Swidsinski S, Schellekens J, Reizenstein E. European Sero-Epidemiology Network: standardisation of the assay results for pertussis. *Vaccine.* 2003;22:112-20.
32. Greeff SC de, Teunis P, de Melker HE, Mooi FR, Elvers B, Notermans DW, Schellekens JFP. Two-Component Cluster Analysis of a Large Serodiagnostic Database for Specificity of Increases of IgG Antibodies against Pertussis Toxin and of Absolute Values in Single Serum Samples. *Clin Vaccine Immunol* 2012;19:1452-6.

Indexserologie: “A tale of two compartments”

J.D.F. de Groot-Mijnes, A.M.J. Wensing

Samenvatting

Binnen- en centraal zenuwstelselinfecties onderscheiden zich van andere infecties doordat deze zich afspeelen in compartimenten die middels een bloed-oog- of een bloed-hersenbarrière afgescheiden zijn van de periferie. De analyse van oogvocht of liquor cerebrospinalis kan daarom van groot belang zijn voor het stellen van een definitieve diagnose. Naast PCR is indexserologie, met als doel om lokale antistofproductie tegen ziekteverwekkers aan te tonen, een waardevolle toepassing, vooral in de subacute en chronische fasen van het ziekteproces wanneer de sensitiviteit van de PCR afneemt.

Trefwoorden

Uveïtis, encefalitis, indexserologie, lokale antistofproductie

Summary

Intraocular and intrathecal infections differ from other infections because they occur in compartments that are separated from the periphery by a blood-ocular and blood-brain barrier. Therefore, the analysis of ocular and cerebrospinal fluid can be of great importance for establishing a definitive diagnosis. In addition to PCR indexserology aimed at determining local antibody production can be a valuable tool, particularly during the subacute and chronic stages of disease when PCR sensitivities decrease.

Inleiding

De diagnose van infecties van immuungeprivilegieerde lichaamscompartimenten zoals de hersenen en het binnenoog is notoir een uitdaging. Beide organen zijn afgescheiden van het systeem middels de bloed-hersen- en bloed-retinabarrière. Deze afscherming heeft als belangrijkste doel een anti-inflammatoire immuunstatus in de hersenen en het oog te handhaven. Tegelijkertijd heeft dit als gevolg dat infecties van het brein en binnenoog lokaal kunnen optreden zonder systemische verspreiding. Om lokale infecties in deze compartimenten aan te tonen is diagnostiek op alleen perifeer bloed in de regel te beperkt; serologie geeft onvoldoende uitsluitend omdat het al of niet aanwezig zijn van antistoffen in het bloed niet hoeft te correleren met lokale infecties. Maar ook moleculaire diagnostiek op een bloedmonster is – een enkele uitzondering daargelaten – in de regel weinig sensitief bij een encefalitis of uveïtis.

Analyse van oogvocht of liquor cerebrospinalis kan meer inzicht geven in de aanwezigheid van een lokale infectie. Bij virale infecties van het centraal zenuwstelsel wordt vooralsnog voornamelijk PCR-analyse op liquor verricht. Bij uveïtis wordt, vooral binnen Nederland, naast PCR ook onderzoek gedaan naar lokale antistofproductie met behulp van indexserologie.

Indexserologie

Indexserologie is een op antistofdetectie gebaseerde methode waarbij de ratio IgG voor een bepaalde verwekker in het serum en in liquor of oogvocht wordt vergeleken met die van een referentiestof (*figuur 1A*). Wanneer sprake is van lekkage van antistoffen vanuit het perifeer bloed in liquor of oogvocht zal er geen verschil zijn in de ratiospecifieke antistoffen/referentiestof tussen bloed en hersen- of oogcompartiment. De resulterende coëfficiënt zal dan de waarde van 1 benaderen (*figuur 1A*). Indien echter sprake is van lokale antistofproductie zal de concentratie specifieke antistoffen in liquor of oogvocht stijgen en daarmee ook de coëfficiënt.

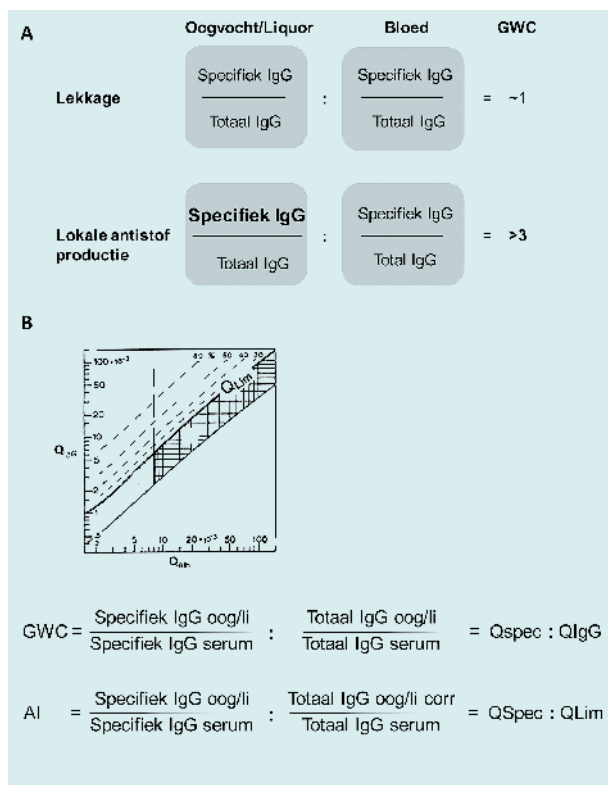
Er bestaan verschillende methodes voor indexserologie die voornamelijk verschillen in de referentiestof. Bij diagnostiek van neurologies bijvoorbeeld wordt de albuminequotiënt als referentieratio gebruikt, terwijl bij de antibody-index (AI) en de Goldmann-Witmercoëfficiënt (GWC) gebruik wordt gemaakt van de totale IgG-ratio als referentie. Bij de Goldmann-Witmercoëfficiënt wordt de specifieke IgG-quotiënt gedeeld door de IgG-totaalquotiënt (*figuur 1B*). Een nadeel van deze methode is dat bij zeer hoge serum-IgG-concentraties en een sterk gecompromitteerde bloed-hersen- of bloed-oogbarrière de hoeveelheid lokaal geproduceerd IgG in liquor of oogvocht slechts een fractie is van de hoeveelheid IgG dat vanuit de periferie is gelekt. Dit kan een fout-negatief resultaat tot

A.M.J. Wensing, afdeling Virologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht.

Correspondentieadres: J.D.F. de Groot-Mijnes, afdeling Virologie en afdeling Oogheelkunde, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Heidelberglaan 100 G04-614, 3584 CX Utrecht, e-mail: J.D.F.deGroot@umcutrecht.nl

Figuur 1A. Schematische weergave van de Goldmann-Witmercoëfficiënt bij lekkage en lokale antistofproductie waarbij totaal IgG en specifiek IgG in perifere bloed (serum) en oogvocht of liquor wordt bepaald. In plaats van totaal IgG kan ook albumine bepaald worden als referentieaanaliët.

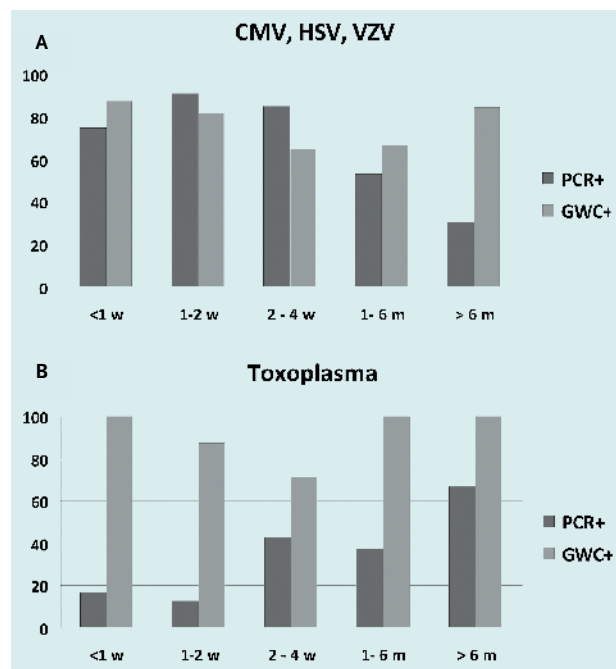
Figuur 1B. Reiber-diagram waarin voor controlemonsters de serum-liquor totaal-IgG-quotiënt (Q_{IgG}) is uitgezet tegen de serum-liquor albuminequotiënt (Q_{Alb}) als referentie voor normale lekkage. De verticale lijn geeft de Q_{Alb} -grenswaarde aan waarboven er sprake is van lekkage en correctie toegepast dient te worden. In de GWC-formule zoals eronder weergegeven wordt totaal IgG in oogvocht of liquor (totaal IgG oog/li) vervangen door de gecorrigeerde waarde waarvan de fractie IgG afkomstig uit het serum is afgetrokken of wel Q_{IgG} wordt vervangen door Q_{Lim} (AI). Let wel, bij de AI worden waarden groter dan 1,5 als indicatief voor lokale antistofproductie beschouwd.



GWC = Goldmann-Witmercoëfficiënt; AI = Antibody Index.

gevolg hebben.¹ De AI is een variant van de GWC die gebruikmaakt van het Reiberdiagram.² Hierbij wordt van controlemonsters de serum-liquor totaal-IgG-quotiënt (Q_{IgG}) uitgezet tegen de serum-liquor albuminequotiënt (Q_{Alb}) als referentie voor normale lekkage (figuur 1B). Door vervolgens in de diagnostische samples zowel de totaal-IgG-quotiënt als de albuminequotiënt te meten, kan bepaald worden of de Q_{Alb} binnen de normale waarden valt. Is dit het geval dan volstaat een GWC. Wanneer dat niet het geval is, kan aan de hand van het Reiberdiagram de fractie IgG afkomstig uit het serum bepaald worden

Figuur 2. Relatie tussen een positieve PCR of GWC en het tijdstip van voorste oogvocht afname bij (A) herpesvirale uveïtis (HSV, VZV, CMV) en (B) *Toxoplasma* chorioretinitis. De resultaten betreffen monsters die met zowel PCR als met GWC zijn getest. De percentages positieve PCR/resultaten zijn in donkerblauw weergegeven en de percentage positieve GWC/resultaten in lichtblauw.



GWC = Goldmann-Witmercoëfficiënt; w = week/weken; m = maanden.

en kan in de GWC-formule hiervoor gecorrigeerd worden (figuur 1B). Het nadeel van de AI is dat naast totaal IgG ook voor ieder monster albumine gemeten moet worden, wat voor oogvochten gezien het kleine volume vaak een probleem is. Een ander verschil tussen de AI en de GWC is de drempelwaarde die gehanteerd wordt (1,5 versus 3). Dit kan inherent aanleiding geven tot meer dubbel-positieve indices bij de AI. Studies waarin de AI en de GWC rechtstreeks worden vergeleken, ontbreken echter.

Indexserologie bij uveïtis

Uveïtis is een ontsteking van de uvea die bestaan uit de iris, het corpus ciliare en het choroid, en aangrenzende structuren zoals de retina. In ongeveer 25% wordt uveïtis veroorzaakt door een systemische aandoening, in 20-30% door een infectie en in circa 50% van de gevallen blijft de oorzaak onbekend. Het onderscheid tussen een infectieuze en een niet-infectieuze uveïtis is van groot belang voor de therapie en de prognose.

De belangrijkste infectieuze oorzaken van uveïtis zijn *Toxoplasma gondii*, cytomegalovirus (CMV), herpes simplexvirus (HSV) 1 en 2, varicellazostervirus (VZV) en rubellavirus. *T. gondii* veroorzaakt chorioretinitis. CMV is vooral bekend als de verwekker van retinitis bij

immuungecompromitteerde patiënten. Recent is gebleken dat CMV ook een hypertensieve anterieure uveïtis kan veroorzaken in immuuncompetente individuen.^{3,4} HSV en VZV veroorzaken verschillende vormen van retinitis in voornamelijk immuuncompetente patiënten.⁵ In het voorsegment kunnen HSV en VZV anterior uveïtis veroorzaken. Rubellavirus is een nieuwe oorzaak van uveïtis en is sterk geassocieerd met een klinische entiteit Fuchs heterochromie-uevitissyndroom.⁶

De klinische virologie van de afdeling Medische Microbiologie van het Universitair Medisch Centrum Utrecht (UMCU) voert sinds 2002 indexserologie uit met behulp van de Goldmann-Witmercoëfficiënt met als belangrijkste doel de diagnose van infectieuze uveïtis. Het laboratorium fungeert als nationaal referentiecentrum voor de diagnostiek van infectieuze uveïtis en verwerkt jaarlijks 400-500 oogvochten waarvan 30-35% afkomstig is van externe inzenders inclusief vanuit het buitenland.

Tussen 2002 en 2011 werden in het UMCU 3166 oogvochten geanalyseerd met PCR en/of GWC voor de meest voorkomende oorzaken van uveïtis. Hiervan waren 727 ogen van 710 uveïtispatiënten (27%) positief (30% *Toxoplasma*, 9% CMV, 18% HSV, 21% VZV, 21% rubellavirus). 637 oogvochten werden geanalyseerd met zowel PCR als GWC. Hiervan werd 43% van de diagnoses gesteld met behulp van een PCR en maar liefst 80% met behulp van een GWC. Dit betekent dat 57% van de

diagnoses gemist zou zijn indien alleen een PCR zou zijn uitgevoerd. Het uitsplitsen van de bijdrage van PCR en GWC per verwekker laat zien dat de PCR en de GWC een vergelijkbaar grote rol spelen bij de diagnose van CMV, HSV en VZV (50-80% elk; tabel 1). Voor de diagnose van rubellavirus-geassocieerde uveïtis is de GWC de belangrijkste bepaling.⁶ *Toxoplasma chorioretinitis* wordt vooral gediagnosticeerd middels een positieve GWC (80%); slechts in 20% van de gevallen wordt alleen de PCR positief bevonden.

Naast het type verwekker kan de sensitiviteit van de test afhangen af van andere factoren, zoals immuunstatus van de patiënt en het moment van oogvochtafname. Westeneng et al. lieten zien dat de herpesvirale infecties in immuungecompromitteerde patiënten in 94% van de gevallen middels PCR en in slechts 18% middels GWC-bepalingen gediagnosticeerd werden daar waar in immuuncompetente patiënten de PCR en GWC in respectievelijk 62,5% en 87,5% positief waren.^{7,8} Bij *Toxoplasma chorioretinitis* bleef de verhouding positieve PCR en GWC bepalingen vrijwel gelijk. Een verklaring hiervoor is nog niet gevonden, maar het zou ermee te maken kunnen hebben dat in deze studie *Toxoplasma chorioretinitis* vooral voorkwam bij *solid organ*-transplantaties waarbij de immuunsuppressie minder uitgebreid is dan bij stamcel- en beenmergtransplantaties. Het tijdstip van oogvochtafname ten opzichte van het begin van de klachten kan ook invloed hebben op welke testen positief worden.⁷ *Figuur 2* toont de relatie tussen het moment van oogvochtafname en de duur van de oogklachten. Zoals vaker gezien wordt bij virale infecties neemt ook bij ooginfecties het aantal positieve PCR-reacties later in het ziekteproces af. De GWC daarentegen kan gedurende de hele ziekteperiode positief zijn en speelt vooral in de latere stadia een belangrijke rol. Voor de diagnose van oculaire toxoplasmose is de GWC gedurende het gehele ziekteproces van groot belang. Verbazingwekkend genoeg neemt hier de frequentie positieve PCR-testen toe in de tijd.⁷ Mogelijk is de parasitaire load bij oculaire toxoplasmose aanvankelijk zo laag dat de *Toxoplasma* tachyzoïten pas later detecteerbaar worden in oogvocht, terwijl er al wel voldoende antigenen tot expressie worden gebracht om aanleiding te geven tot intraoculaire antistofproductie.

Deze data laten zien dat indexserologie op oogvocht een zeer belangrijke bijdrage levert aan de diagnostiek van infectieuze uveïtis en bij voorkeur altijd in combinatie met de PCR uitgevoerd moet worden, mits de hoeveelheid oogvocht dit toelaat.

Indexserologie bij infecties van het centraal zenuwstelsel

Verschillende virussen, bacteriën, schimmels en parasieten kunnen het centraal zenuwstelsel (CZS) invaderen en encefalitis, meningitis en radiculitis

Tabel 1. Bijdrage PCR en GWC aan de diagnose van diverse infectieuze uveïtisverwekkers.

	N	PCR+	GWC+
CMV	60	65%	62%
HSV	126	59%	75%
VZV	140	63%	78%
Rubellavirus	126	8%	96%
<i>Toxoplasma gondii</i>	198	36%	80%
Totaal	650	43%	80%

GWC = Goldmann-Witmercoëfficiënt; CMV = cytomegalovirus; HSV = herpessimplexvirus; VZV = varicellazostervirus.

Tabel 2. Invloed van immuunstatus op de positiviteit van de PCR en de GWC bepaling bij uveïtis.

	CMV, HSV, VZV		<i>Toxoplasma gondii</i>	
	PCR+	GWC+	PCR+	GWC+
Immuuncompetent	62,5%	87,5%	36%	92%
Immuun-gecompromiteerd	94%	18%	40%	90%

GWC = Goldmann-Witmercoëfficiënt; CMV = cytomegalovirus; HSV = herpessimplexvirus; VZV = varicellazostervirus.

veroorzaken. Microbiële laboratoriumdiagnostiek van bacteriële CZS-infecties vindt vooral plaats door gramkleuring en kweek van de liquor cerebrospinalis. Voor de diagnose van neuroborreliose en neurolues echter wordt standaard detectie van intrathecale antistofproductie toegepast omdat PCR en kweek een lage gevoeligheid hebben. Voor het vaststellen van neuroborreliose bestaan speciale neuroborreliosetesten, (veelal) gebaseerd op ELISA. Voor de diagnose van neurolues wordt meestal de *Treponema pallidum* agglutinatietest op liquor en serum uitgevoerd, waarbij de index berekend wordt met albumine als referentieanaliet.⁹

Voor de diagnose van een virale CZS-infectie geniet de PCR op liquor meestal de voorkeur, maar de detectie van intrathecale antistoffen met behulp van indexserologie kan ook hier een belangrijke rol spelen. De bijdrage van indexserologie bij virale CZS-infecties is vooral onderzocht voor HSV en tick-borne encefalitis virus (TBEV) en in mindere mate voor VZV, maar is ook beschreven voor andere virale infecties.¹⁰⁻¹⁷

Studies laten zien dat de sensitiviteit van HSV-PCR in de acute fase van herpes simplex encefalitis boven de 90% ligt en dat viraal DNA aantoonbaar is tot ongeveer een week na de start van antivirale therapie.^{10,15,17} Echter, fout-negatieve PCR-resultaten kunnen optreden bij zeer vroege infecties als de virale load in de liquor nog onder de detectiegrens ligt of laat in infectie als de virale load gedaald is, vaak mede als gevolg van effectieve therapie.^{10,18} Met name laat in het ziekteproces kan een HSV-infectie alsnog worden gediagnosticeerd met behulp van de detectie van intrathecale antistofproductie. Eerdere studies laten zien dat de gevoeligheid van de indexserologie bij herpes simplex encefalitis bijna 100% kan bereiken na 10 tot 12 dagen en dat intrathecale antistofproductie gedetecteerd kan worden in liquoren afgenomen jaren na de eerste episode van encefalitis.^{19,20} Of het laatste fenomeen reactivaties betreft, continue antigeenstimulatie of dat B-celactivatie en differentiatie niet wordt geremd, is niet geheel duidelijk.²⁰ Ook voor de diagnose van intrathecale VZV-infecties kan indexserologie in de subacute of chronische fase van het ziekteproces toegepast worden wanneer de gevoeligheid van de PCR daalt.^{12,16,21}

Bij TBEV-infecties is PCR-analyse zelden positief en wordt daarom niet geschikt geacht voor routinediagnostiek.²² Hoewel IgM- en IgG-antistofdetectie in serum de virologische bepaling van eerste keuze is, kan indexserologie hier bijdragen aan de diagnose. Günther et al. toonden intrathecale antistoffen aan in 50 van 52 (96%) patiënten bij wie sampling had plaatsgevonden tussen 11 en 61 dagen na het ontstaan van de klachten.¹³

Ook bij subsclerotiserende panencefalitis (SSPE) wordt met PCR zelden mazelenvirus gedetecteerd, maar kan met indexserologie intrathecale antistofproductie tegen het virus aangetoond worden.^{11,14} Men moet hierbij wel

bedacht zijn op polyspecifieke stimulatie van B-cellen. Het is daarom van belang om de GWC- of AI-uitslagen van verschillende virussen met elkaar te vergelijken om te bepalen of de mazelenvirusindex uitstijgt boven die van de andere verwekkers.¹⁴

Indexserologie kan ook toegepast worden voor rubellavirus en bofvirus; echter tot nu toe is dit alleen beschreven in kinderen met neurologische klachten.²³

In principe is het mogelijk een indexserologiebepaling te implementeren voor alle pathogenen waarvoor kwantitatieve antistofdetectietesten beschikbaar zijn, mits deze testen specifiek genoeg zijn; kruisreactie kan de indexserologie bemoeilijken, zoals dat bijvoorbeeld voor de verschillende entero- en parechovirussen het geval is.

Indexserologie kan dus een bijdrage leveren aan de diagnose van een CZS-infectie in ziektestadia waar de PCR-reacties niet gevoelig genoeg zijn, maar kan dat ook wanneer de PCR niet specifiek genoeg is, zoals bij humaan herpesvirus 6 (HHV6) en Epstein-barrvirus (EBV) wel voorkomt. Beide virussen kunnen in lage hoeveelheden aangetoond worden in de liquor zonder duidelijk klinische relevantie.^{24,25} Het uitvoeren van een indexserologiebepaling kan dan een bijdrage leveren aan de specificiteit van de diagnostiek.

In immuungecompromitteerde patiënten is de PCR-analyse van liquor intuïtief de meest voor de hand liggende diagnostiek. Echter, net als bij immunocompetente patiënten zijn bij aidspatiënten met CMV en *Toxoplasma*-encefalitis de PCR-reacties vooral kort na het ontstaan van klachten en/of kort na de start van behandeling positief en kan indexserologie een bijdrage leveren aan de diagnostiek in de latere fasen van infectie.²⁶⁻²⁹

Valkuilen van de indexserologie

De toepassing van indexserologie bestaat bij gratie van een bloed-oog- en bloed-hersenbarrière waardoor een compartimentaliseerde antilichaamrespons kan optreden.^{16,27} Ook wanneer de barrière in meer of mindere mate doorbroken is, kan met behulp van indexserologie het verschil in antistofverhoudingen tussen perifeer bloed en oog of hersenen gemeten worden. In sommige gevallen echter, wanneer de specifieke serum-IgG-titer extreem hoog is en de barrière zeer ernstig gecompromitteerd is, kan het voorkomen dat er zoveel perifeer specifiek IgG in het oog- of hersencompartiment lekt, dat het lokaal geproduceerde deel gemaskeerd wordt en de index fout-negatief is. Zoals eerder vermeld kan dit deels ondervangen worden door te corrigeren voor lekkage met behulp van de AI (figuur 1B).² Wanneer de albuminebepaling op het oogvocht of liquor echter niet (meer) mogelijk is, kan overwogen worden om op een later tijdstip nogmaals materiaal af te nemen voor diagnostiek.

Antistofproductie in oogvocht of liquor kan plaatsvinden in reactie op een actieve infectie, maar ook als gevolg van een polyspecifieke B-celactivatie. Dat laatste komt vooral voor bij patiënten met multiple sclerose en wordt ook wel de mazelen-rubella-varicella (MRZ)-respons genoemd.³⁰ Dit wil overigens niet zeggen dat de polyspecifieke reactivatie zich beperkt tot deze drie verwekkers. Ook bij SSPE en bij HIV-positieve patiënten moet men bedacht zijn op polyspecifieke immunologische reacties als gevolg van een abberante CD4+ T-lymfocyten co-stimulatie van B-cellen. Om onderscheid te kunnen maken tussen beide is het van groot belang om bij onderzoek naar lokale antistofproductie altijd de reactie tegen ten minste twee pathogenen te bekijken. Antistofproductie tegen slechts één van meerdere microben is een sterke aanwijzing voor een lokale infectie met het betreffende pathogeen, terwijl een positieve GWC of AI tegen meerdere pathogenen een aanwijzing voor polyspecifieke activatie kan zijn. Hierbij moet opgemerkt worden dat multiple positieve indices vaker gezien worden voor HSV en VZV, zowel intraoculair als intrathecaal.^{6,7,16} Dit kan toegeschreven worden aan kruisreactie, bovengenoemde polyspecifieke B-celactivatie, maar zeker ook aan co-activatie van beide virussen.^{16,31} Zo is ooit een patiënt beschreven met een intraoculaire HSV- en VZV-infectie, bij wie zowel de PCR als de GWC positief waren voor beide virussen.⁷

Discussie en conclusie

De huidige beschikbare data laten zien dat bij ooginfecties de indexserologie gedurende het hele ziekteproces een belangrijke rol speelt, daar waar dit bij CZS-infecties vooral in subacute en chronische stadia het geval is. Een verklaring hiervoor is er niet, maar het zou ermee te maken kunnen hebben dat bij uveïtis meestal sprake is van een recidiverende ooginfectie waardoor lokale antistofproductie mogelijk sneller detecteerbaar is. Interessant is dat Contini *et al.* een patiënt beschreven met recidiverende *Toxoplasma-encefalitis* bij wie de intrathecale antistofproductie eerder positief was dan de PCR.²⁷

Voor de diagnose van zowel intraoculaire als intrathecale infecties wordt indexserologie toegepast. Echter voor oogvochten wordt meestal gebruikgemaakt van de lineaire GWC-bepaling terwijl voor liquoren in recentere publicaties vooral de AI wordt beschreven. De AI is een afgeleide van de GWC en is ontwikkeld is om in geval van hoge lekkage van IgG hiervoor te corrigeren. Dit vermindert het aantal fout-negatieve uitslagen en maakt deze bepaling gevoeliger dan de GWC. Zowel de GWC als de AI zijn toepasbaar voor de diagnose van infectieuze oog- en CZS-infecties, mits de beperkingen van beide methoden in het oog worden gehouden.

Referenties

- Kijlstra A, Luyendijk L, Baarsma GS, Rothova A, Schweitzer CM, Timmerman Z, et al. Aqueous humor analysis as a diagnostic tool in toxoplasma uveitis. *Int Ophthalmol.* 1989;13:383-6.
- Reiber H. Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF)--a concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases. *J Neurol Sci.* 1994;122:189-203.
- de Schryver I, Rozenberg F, Cassoux N, Michelson S, Kestelyn P, Lehoang P, et al. Diagnosis and treatment of cytomegalovirus iridocyclitis without retinal necrosis. *Br J Ophthalmol.* 2006;90:852-5.
- van Bostel LA, van der Lelij A, van der Meer J, Los LI. Cytomegalovirus as a cause of anterior uveitis in immunocompetent patients. *Ophthalmology* 2007;114:1358-62.
- Wensing B, de Groot-Mijnes JDF, Rothova A. Necrotizing and nonnecrotizing variants of herpetic uveitis with posterior segment involvement. *Arch Ophthalmol.* 2011;129:403-8.
- Quentin CD, Reiber H. Fuchs heterochromic cyclitis: rubella virus antibodies and genome in aqueous humor. *Am J Ophthalmol.* 2004;138:46-54.
- De Groot-Mijnes JDF, Rothova A, Van Loon AM, Schuller M, Ten Dam-Van Loon NH, De Boer JH, et al. Polymerase chain reaction and Goldmann-Witmer coefficient analysis are complementary for the diagnosis of infectious uveitis. *Am J Ophthalmol.* 2006;141:313-8.
- Westeneng AC, Rothova A, de Boer JH, de Groot-Mijnes JD. Infectious uveitis in immunocompromised patients and the diagnostic value of polymerase chain reaction and Goldmann-Witmer coefficient in aqueous analysis. *Am J Ophthalmol.* 2007;144:781-5.
- Prange HW, Moskophidis M, Schipper HI, Muller F. Relationship between neurological features and intrathecal synthesis of IgG antibodies to *Treponema pallidum* in untreated and treated human neurosyphilis. *J Neurol.* 1983;230:241-52.
- Aurelius E, Johansson B, Skoldenberg B, Staland A, Forsgren M. Rapid diagnosis of herpes simplex encephalitis by nested polymerase chain reaction assay of cerebrospinal fluid. *Lancet.* 1991;337:189-92.
- Conrad AJ, Chiang EY, Andeen LE, Avolio C, Walker SM, Baumhefner RW, et al. Quantitation of intrathecal measles virus IgG antibody synthesis rate: subacute sclerosing panencephalitis and multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 1994;54:99-108.
- Gregoire SM, van Pesch V, Goffette S, Peeters A, Sindic CJ. Polymerase chain reaction analysis and oligoclonal antibody in the cerebrospinal fluid from 34 patients with varicella-zoster virus infection of the nervous system. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2006;77:938-42.
- Gunther G, Haglund M, Lindquist L, Skoldenberg B, Forsgren M. Intrathecal IgM, IgA and IgG antibody response in tick-borne encephalitis. Long-term follow-up related to clinical course and outcome. *Clin Diagn Virol.* 1997;8:17-29.
- Jacobi C, Lange P, Reiber H. Quantitation of intrathecal antibodies in cerebrospinal fluid of subacute sclerosing panencephalitis, herpes simplex encephalitis and multiple sclerosis: discrimination between microorganism-driven and polyspecific immune response. *J Neuroimmunol.* 2007;187:139-46.
- Lakeman FD, Whitley RJ. Diagnosis of herpes simplex encephalitis: application of polymerase chain reaction to cerebrospinal fluid from brain-biopsied patients and correlation with disease. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral Study Group. *J Infect Dis.* 1995;171:857-63.
- Schultze D, Weder B, Cassinotti P, Vitek L, Krausse K, Fierz W. Diagnostic significance of intrathecally produced herpes simplex and varicella-zoster virus-specific antibodies in central nervous system infections. *Swiss Med Wkly.* 2004;134:700-4.
- Studahl M, Lindquist L, Eriksson BM, Gunther G, Bengner M, Franzen-Rohl E, et al. Acute viral infections of the central nervous system in immunocompetent adults: diagnosis and management. *Drugs.* 2013;73:131-58.
- Weil AA, Glaser CA, Amad Z, Forghani B. Patients with suspected herpes simplex encephalitis: rethinking an initial negative polymerase chain reaction result. *Clin Infect Dis.* 2002;34:1154-7.

19. Forsgren M, Skoldenberg B, Jeansson S, Grandien M, Blomberg J, Juto P, et al. Serodiagnosis of herpes encephalitis by indirect enzyme-linked immunosorbent assay, experience from a Swedish antiviral trial. *Serodiagn Immunoth Inf Dis*. 1989;3:259-71.
20. Vandvik B, Skoldenberg B, Forsgren M, Stiernstedt G, Jeansson S, Norrby E. Long-term persistence of intrathecal virus-specific antibody responses after herpes simplex virus encephalitis. *J Neurol*. 1985;231:307-12.
21. Nagel MA, Cohrs RJ, Mahalingam R, Wellish MC, Forghani B, Schiller A, et al. The varicella zoster virus vasculopathies: clinical, CSF, imaging, and virologic features. *Neurology*. 2008;70:853-60.
22. Saksida A, Duh D, Lotric-Furlan S, Strle F, Petrovec M, Avsic-Zupanc T. The importance of tick-borne encephalitis virus RNA detection for early differential diagnosis of tick-borne encephalitis. *J Clin Virol*. 2005;33:331-5.
23. Denne C, Kleines M, Dieckhofer A, Ritter K, Scheithauer S, Merz U, et al. Intrathecal synthesis of anti-viral antibodies in pediatric patients. *Eur J Paediatr Neurol*. 2007;11:29-34.
24. Davies NW, Brown LJ, Gonde J, Irish D, Robinson RO, Swan AV, et al. Factors influencing PCR detection of viruses in cerebrospinal fluid of patients with suspected CNS infections. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005;76:82-7.
25. Studahl M, Hagberg L, Rekabdar E, Bergstrom T. Hematogenously spread herpesviruses are detected as frequently as neuronally spread herpesviruses in cerebrospinal fluid by polymerase chain reaction assay. *Clin Infect Dis*. 1999;29:216-8.
26. Cinque P, Vago L, Brytting M, Castagna A, Accordini A, Sundqvist VA, et al. Cytomegalovirus infection of the central nervous system in patients with AIDS: diagnosis by DNA amplification from cerebrospinal fluid. *J Infect Dis*. 1992;166:1408-11.
27. Contini C, Fainardi E, Cultrera R, Canipari R, Peyron F, Delia S, et al. Advanced laboratory techniques for diagnosing *Toxoplasma gondii* encephalitis in AIDS patients: significance of intrathecal production and comparison with PCR and ECL-western blotting. *J Neuroimmunol*. 1998;92:29-37.
28. Mikita K, Maeda T, Ono T, Miyahira Y, Asai T, Kawana A. The utility of cerebrospinal fluid for the molecular diagnosis of toxoplasmic encephalitis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013;75:155-9.
29. Novati R, Castagna A, Morsica G, Vago L, Tambussi G, Ghezzi S, et al. Polymerase chain reaction for *Toxoplasma gondii* DNA in the cerebrospinal fluid of AIDS patients with focal brain lesions. *Aids*. 1994;8:1691-4.
30. Reiber H, Ungefehr S, Jacobi C. The intrathecal, polyspecific and oligoclonal immune response in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 1998;4:111-7.
31. Casas I, Tenorio A, de Ory F, Lozano A, Echevarria JM. Detection of both herpes simplex and varicella-zoster viruses in cerebrospinal fluid from patients with encephalitis. *J Med Virol*. 1996;50:82-92.

Dankbetuiging

Onze dank gaat uit naar A.M. van Loon voor waardevolle discussies.

Financiers

Dr. F.P. Fischerstichting, Amersfoort, Stichting Nederlands Oogheelkundig Onderzoek, Rotterdam.

Chronic Q fever in the Netherlands

L.M. Kampschreur

Q-koorts, een bacteriële zoönose, wordt veroorzaakt door *Coxiella burnetii* en kent bij de mens zowel acute als chronische manifestaties. Van 2007-2010 was er een grote Q-koortsuitbraak in Nederland, waarbij er ruim 4000 patiënten met acute Q-koorts werden gemeld. Daarnaast is er een nog steeds groeiend aantal patiënten met chronische Q-koorts van wie de gegevens zijn verzameld in de Nederlandse Chronische Q-koorts Database (NCQD).

Ongeveer 60% van de mensen die besmet raken met *C. burnetii* heeft geen initiële klachten na besmetting. Acute Q-koorts presenteert zich doorgaans als een zelflimiterend, griepachtig beeld, vaak gecompliceerd door een pneumonie. Chronische Q-koorts treedt op bij 1-5% van alle *C. burnetii*-besmettingen en kan zich jaren hierna openbaren. De belangrijkste verschijningsvormen zijn endocarditis, infecties van aneurysmata of vaatprothesen en zwangerschapperelateerde infecties. Chronische Q-koorts kent een hoge mortaliteit (> 60%) indien behandeling met antibiotica, bestaande uit doxycycline en hydroxychloroquine gedurende 18-24 maanden, uitblijft.

In een case-controlstudie vergeleken we patiënten met chronische Q-koorts met acute Q-koortspatiënten die geen chronische Q-koorts ontwikkelden. Belangrijke risicofactoren voor het ontwikkelen van chronische Q-koorts zijn aneurysmata, vaatprothesen en een voorgeschiedenis met hartklepchirurgie. Hogere leeftijd, milde nierziekte, valvulopathy, immuunsuppressie en zwangerschap lijken ook geassocieerd te zijn met chronische Q-koorts.

Hoewel na 2009 steeds meer chronische Q-koortspatiënten in Nederland gediagnosticeerd werden, bleek dat er geen uniformiteit was in de diagnostiek en dat goede definities van chronische Q-koorts ontbraken. Aan de hand van een review van de internationale literatuur en recente ervaringen werd, in samenspraak met de Nederlandse Consensusgroep Diagnostiek Q-koorts, een nieuwe richtlijn voor de diagnostiek van chronische Q-koorts opgesteld. Deze richtlijn combineert klinische, radiologische en microbiologische factoren, waarmee patiënten worden ingedeeld in bewezen, waarschijnlijke en mogelijke chronische Q-koorts:

- Bewezen chronische Q-koorts: positieve *C. burnetii*-PCR in bloed of weefsel (in afwezigheid van een acute infectie) óf in geval van fase I IgG ≥ 1024 met een evident chronische Q-koortsfocus.

- Waarschijnlijke chronische Q-koorts: fase-I IgG $\geq 1:1024$ en risicofactoren voor chronische Q-koorts, milde echocardiografische afwijkingen, zeldzame manifestaties van chronische Q-koorts (bijvoorbeeld hepatitis, osteomyelitis), of tekenen van een systemische ontsteking.
- Mogelijke chronische Q-koorts: fase I IgG $\geq 1:1024$, zonder een van de manifestaties in de categorieën bewezen en waarschijnlijke chronische Q-koorts, en weerspiegelt grotendeels patiënten zonder daadwerkelijke chronische Q-koorts.



L.M. Kampschreur, e-mail: l.m.kampschreur@umcutrecht.nl.
Promotie-datum 15 maart 2013, Universiteit Utrecht. Promotor:
prof. dr. A.I.M. Hoepelman, copromotoren: dr. P.C. Wever en dr. J.J.
Oosterheert

Tabel 1. Nederlandse consensusrichtlijn voor de diagnostiek van chronische Q-koorts.

Bewezen chronische Q-koorts	Waarschijnlijke chronische Q-koorts	Mogelijke chronische Q-koorts
1. Positieve <i>Coxiella burnetii</i> PCR in bloed of weefsel QE 2. IFA \geq 1:1024 voor <i>C. burnetii</i> fase I IgG EN - Endocarditis op TEE volgens de gemodificeerde Duke-criteria QE - Bewezen ontsteking van grote vaten of vaatprothesen op beeldvormend onderzoek (FDG-PET, CT, MRI or AUS)	IFA \geq 1:1024 voor <i>C. burnetii</i> fase I IgG EN - Hartklepafwijking niet voldoende aan criteria voor endocarditis volgens de gemodificeerde Duke-criteria - Bekend aneurysma, vaatprothese of hartklepafwijking zonder afwijkingen bij beeldvormend onderzoek (TEE/ TTE, FDG-PET, CT, MRI or echo abdomen) - Verdenking osteomyelitis, pericarditis of hepatitis als chronische Q-koortsmanifestatie - Zwangerschap - Symptomen en tekenen van chronische infectie zoals koorts, afvallen, nachtzweeten, hepatosplenomegalie en verhoogd CRP of bezinking - Immuunsuppressie	IFA \geq 1:1024 voor <i>C. burnetii</i> fase I IgG zonder één van de manifestaties in de categorieën bewezen en waarschijnlijke chronische Q-koorts

IFA = immunofluorescence assay; FDG-PET = fluorodeoxyglucose positron emission tomography; CT = computer tomography; MRI = magnetic resonance imaging; TEE = transesophageal echocardiography; TTE = transthoracic echocardiography.

Om verder richting te kunnen geven aan de diagnostiek van chronische Q-koorts, werd bij de eerste 201 patiënten in de NCQD gekeken naar verschil in antistoftiters tussen bewezen, waarschijnlijke en mogelijke chronische Q-koortspatiënten. Een positieve *C. burnetii*-PCR op bloed werd gezien in slechts 65% van de bewezen chronische Q-koortspatiënten. Bij patiënten met bewezen chronische Q-koorts, waren de fase-I IgG-titers significant hoger in vergelijking met patiënten met een waarschijnlijke en mogelijke chronische Q-koorts. De positief voorspellende waarden van fase-I IgG-titers voor bewezen chronische Q-koorts, in vergelijking met mogelijke chronische Q-koorts, bij titers 1:1024, 1:2048, 1:4096, \geq 1:8192, waren respectievelijk 62%, 67%, 77%, > 86%. Anderzijds bedroeg de sensitiviteit respectievelijk 98%, 95%, 81% en < 60%. Dit geeft aan dat het verhogen van de afkaptiter voor de diagnose van chronische Q-koorts, nu 1:1024, zou leiden tot een onaanvaardbaar aantal gemiste chronische Q-koortspatiënten, hoewel anderzijds met de huidige afkaptiter het aantal chronische Q-koortsgevallen wel wordt overschat. Microbiologische diagnostiek moet derhalve gecombineerd worden met klinische gegevens voor een goede diagnosestelling.

Er zijn wereldwijd slechts weinig beschrijvingen van grote cohorten van chronische Q-koortspatiënten. Vijf jaar na de start van de Q-koortsepidemie beschreven we de chronische Q-koortspatiënten die geïncludeerd zijn in de

NCQD. In totaal werden 284 chronische Q-koortspatiënten geïdentificeerd, van wie er 151 (54%) bewezen chronische Q-koorts, 64 (22%) waarschijnlijk chronische Q-koorts en 69 (24%) mogelijk chronische Q-koorts hadden. De meerderheid van de bewezen en waarschijnlijke chronische Q-koorts patiënten had een vasculair infectiefocus (57%), gevolgd door endocarditis (35%). Een acute Q-koortsepisode werd herinnerd door slechts 27% van de patiënten. Bij patiënten met bewezen en waarschijnlijke chronische Q-koorts, was de sterfte ten gevolge van chronische Q-koorts 13%: 9% bij endocarditispatiënten en 18% bij vasculaire chronische Q-koortspatiënten. Oudere leeftijd en presentatie met vasculaire complicaties waarvoor acuut chirurgisch ingrijpen noodzakelijk was, waren de belangrijkste risicofactoren voor sterfte door chronische Q-koorts.

Omdat vroege opsporing van chronische Q-koorts in epidemische gebieden complicaties en derhalve morbiditeit en mortaliteit van chronische Q-koorts zou kunnen verminderen, bevelen we gerichte screening aan voor risicogroepen. Een voorbeeld hiervan is een screening onder patiënten met hartklepchirurgie in de voorgeschiedenis die plaatsvond in het Jeroen Bosch Ziekenhuis in 2010. In deze populatie vonden wij een seroprevalentie van *C. burnetii*-antilichamen van 20%, waarbij bewezen of waarschijnlijke chronische Q-koorts werd vastgesteld in 8% van de patiënten.

Serologiecursus 2013

Antistof, het verborgen goud

Dit jaar komt het langverwachte vervolg op de serologiecursus van 2010! Van 12 tot en met 14 november zullen de belangrijkste thema's in de infectieziekten-serologie weer de revue passeren.

De serologie is een van de pijlers van de microbiologische diagnostiek. Serologie is een ingewikkeld vak. Het begint al met de inrichting van het laboratorium. Er wordt een veelheid van serologische apparatuur en testen aangeboden, welke moet je kiezen? Hoe valideer je een nieuwe test of analyzer? Hoe richt je het lab zo efficiënt mogelijk in? Ook de interpretatie van serologische uitslagen zit vol uitdagingen. Wat zegt een positieve IgM tegen denguevirus? Wanneer heeft iemand neuro-borreliose? Wat concludeer je uit een zwakpositieve IGRA? En welke rol speelt de serologie bij iemand met een chronische


infectie met Q-koorts? Deze, en veel andere vragen komen aan bod in de serologiecursus!

In de eerste dag van het programma ligt de nadruk op het laboratorium en op de theoretische achtergronden van de serodiagnostiek. Er zal onder andere worden gediscussieerd worden over de inrichting van het laboratorium en over de voor- en nadelen van verschillende analyzers. Tijdens de tweede en derde dag bespreken experts de serologische diagnostiek bij specifieke ziektebeelden.

Cursisten kunnen zich inschrijven voor de hele cursus of een willekeurige afzonderlijke dag. Accreditatie is aangevraagd voor zowel de NVMM, de NVML als de NIV..

We hopen jullie te ontmoeten in november!

Jean-Luc Murk, Aletta Tholen, Wim Ang



<p>SEROLOGIE CURSUS 2013</p> <p>THEMA: Antistof, het verborgen goud</p> <p>GEORGANISEERD DOOR: VU medisch centrum & UMC Utrecht</p> <p>WANNEER: 12 t/m 14 november 2013</p> <p>WAAR: De Nieuwe Liefde, Da Costakade 102, Amsterdam</p> <p>VOOR WIE:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Arts-assistenten medische microbiologie • Medisch microbiologen • Infectiologen/ fellows infectiologie • Hoofdanalisten serologie • Andere geïnteresseerden <p>KOSTEN: 495 euro voor 3 dagen 245 euro voor 1 dag</p> <p>ACCREDITATIE: Accreditatie is aangevraagd</p> <p>INSCHRIJVING EN NADERE INFORMATIE: www.vumc.nl/serologiecursus serologiecursus@gmail.com</p>	<p>PROGRAMMA</p> <p>DAG 1: DINSDAG 12 NOVEMBER</p> <p>Basistechnieken in de serologie LEAN management Validatie van serologische assays Immunologie Verschillende analyzers Vergelijkende studies Discussie</p> <p>DAG 2: WOENSDAG 13 NOVEMBER</p> <p>Lues Uveïtis Schimmels en gisten Hepatitis E Protozoa Leptospirose Flavivirussen Wormen en meer</p> <p>DAG 3: DONDERDAG 14 NOVEMBER</p> <p>Q-koorts CMV en EBV Hepatitis B en Hepatitis C Lyme IGRA HIV Valkoilen in de diagnostiek</p>	<p>SPREKERS:</p> <p>Jean-Luc Murk Peter Kabel Wim Ang George Kraal Fabrikanten Peter Kabel</p> <p>Wim Ang Jolanda de Groot Paul Verweij Aletta Tholen Tom van Gool Marga Goris Jean-Luc Murk Titia Kortbeek</p> <p>Peter Wever Ann Vossen Hans Zaaiker Frans Verduyn-Lunel Maarten Scholleg Anne Wensing Hans Zaaiker</p>
--	---	--

Regulatorische aspecten bij de ontwikkeling van antibiotica voor multiresistente bacteriën (1)

A. Vollaard, B. Voordouw

De registratie van de meeste nieuwe antibiotica in Europa wordt sinds 1995 'centraal' via de European Medicines Agency (EMA) en Europese commissie gereguleerd voor alle lidstaten, zodat daarmee uniformiteit in indicaties en dosering bij alle lidstaten kan worden bereikt.

In de onderstaande tabel staan alle antibiotica die via deze centrale autorisatie vanaf 1995 zijn goedgekeurd.

Antibioticum	Indicaties
Aztreonam-lysiene (Cayston®)	Inhalatiebehandeling van <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bij cystic fibrosis
Ceftaroline (Zinforo®)	Gecompliceerde huid- en wekedeleninfectie (cSSTI) en CAP
Colistine (Colobreathe®)	Suppressieve therapie van chronische longinfectie met <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vanaf 6 jaar met cystic fibrosis
Daptomycine (Cubicin®)	Gecompliceerde huid- en wekedeleninfecties, Rechtzijdige endocarditis t.g.v. <i>S. aureus</i> , <i>S. aureus</i> -bacteriëmie bij 1 of 2
Doripenem (Doribax®)	Nosocomiale pneumonie (incl. VAP), gecompliceerde intra-abdominale infecties, gecompliceerde urineweginfecties
Ertapenem (Invanz®)	Intra-abdominale infecties, CAP, gynaecologische infecties, diabetische voet
Fidaxomicine (Difclir®)	<i>Clostridium difficile</i> -infecties
Retapamulin (Altargo®)	Oppervlakkige huidinfecties (zalf)
Telavancine (Vibativ®)	Nosocomiale pneumonie inclusief VAP, bij bekend zijn van of bij verdenking van MRSA
Telithromycine (Ketek®)	CAP, acute exacerbaties van chronische bronchitis, tonsillitis/faryngitis en acute sinusitis (restricties n.a.v. hepatotoxiciteit, niet beschikbaar in NL)
Tigecycline (Tygacil®)	Gecompliceerde huid- en wekedeleninfectie (cSSTI) behoudens diabetische voet, gecompliceerde intra-abdominale infecties
Tobramycine (Tobi Podhaler®)	Suppressieve therapie van chronische longinfectie met <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vanaf 6 jaar met cystic fibrosis

Daarnaast is ook linezolid (Zyvoxid®) geregistreerd via een zogeheten 'decentrale procedure', waarbij de registratie in het Verenigd Koninkrijk uitbreiding toestond naar andere Europese landen. Na deze registraties kan de fabrikant beslissen het antibioticum op de markt te brengen. In elke lidstaat zullen bovendien de nationale ziektekostenverzekeraars moeten beslissen of men deze middelen ook daadwerkelijk wil vergoeden. Hierdoor zijn niet alle antibiotica in elke lidstaat beschikbaar.

Van alle geneesmiddelen die bij de EMA worden ingediend, bereikt 74% een registratiestatus (Regnstrom, 2010). Voor 26% blijken de voordelen dus niet op te wegen tegen de mogelijke nadelen, of zijn er andere problemen die een toelating tot de markt verhinderen. Ook bij de antibiotica is er een aantal middelen geweest dat op basis hiervan geen EU-registratie kreeg: ceftobiprole (een cefalosporine), gemifloxacin en garenoxacin (fluoroquinolonen), iclaprim (trimethoprim analoog), en dalbavancine en oritavancine (glycopeptiden).

In de pijplijn voor nieuwe antibiotica zijn op dit moment zeven nieuwe stoffen in fase-II- of -III-studies met als indicatiegebied gramnegatieve infecties: imipenem en drie cefalosporines in combinatie met nieuwe beta-lactamase inhibitors, plazomicine (een aminoglycoside), Eravacycline (een tetracycline) en Brilacidine (een nieuwe klasse van peptide defense protein mimetic) (Boucher, 2013).

Bij de afweging van de voor- en nadelen ('de balans werkzaamheid-schadelijkheid') wordt onder andere gebruikgemaakt van EMA-richtlijnen. Voor antibiotica is de kapstok het document uit 2011 "Guideline on the evaluation of medicinal products indicated for treatment of bacterial infections" (voor weblink, zie referentielijst), dat twee gerandomiseerde geblindeerde studies eist per

A. Vollaard, klinisch beoordelaar anti-infectiva, FT4, CBG, internist-infectioloog LUMC.

Correspondentieadres: B. Voordouw, klinisch senior speerpuntbeoordelaar, anti-infectiva, farmacotheapeutische groep. IV, CBG; AIOS medische microbiologie LUMC, e-mail: ac.voordouw@cbg-meb.nl.

indicatie, waarbij het nieuwe middel ten minste even werkzaam moet zijn ('non-inferieur') als een geaccepteerde standaardbehandeling. De ratio daarbij is dat het antibioticum bewezen effectief moet zijn als empirische therapie; microbiologische activiteit tegen bepaalde veronderstelde verwekkers passend bij het indicatiegebied is onvoldoende. Zoals blijkt uit het overzicht is goedkeuring meestal gebaseerd op een ziektebeeld en niet op een oorzakelijk micro-organisme (bijvoorbeeld ESBL-positieve *Enterobacteriaceae*).

Echter, de toename van resistentie bij gramnegatieve infecties is verontrustend. Zo bevatte 3,5% van ruim 7000 monsters uit verschillende ziekenhuizen in Italië in 2011 carbapenem-resistente *Enterobacteriaceae* (Giani, 2013). De huidige alternatieve therapieën zijn daarbij onvoldoende onderzocht en gevalideerd, en daarom is er sprake van een 'unmet medical need'. In toenemende mate is men van mening dat hierbij de traditionele indicatiespecifieke benadering niet meer toereikend is. Vooraf is slecht te voorspellen of een orgaansysteem geïnfecteerd is met multidrugresistente micro-organismen, Bovendien kunnen meerdere orgaansystemen zijn geïnfecteerd met

deze bacteriën, maar blijven absolute patiëntenaantallen te klein om per indicatie een of twee studies te vereisen voor registratie. Bovendien worden antibiotica ontwikkeld met een nauw spectrum (bijvoorbeeld fidaxomicine tegen *C. difficile* en POL7080 tegen *Pseudomonas*), waarbij de indicatiespecifieke benadering ook niet voldoet.

In reactie op deze problematiek worden op dit moment de traditionele registratiecriteria van FDA en EMA heroverwogen, waarbij onder meer wordt onderzocht wat de mogelijkheden zijn om te komen tot pathogeenspecifieke registratie van nieuwe antibiotica. In de volgende column worden de obstakels hierbij onder de loep genomen.

Referenties

1. Regnstrom et al. Eur J Clin Pharmacol., 2010.
2. Giani et al. Eurosurveillance, Vol 18 (22), 30 May, 2013.
3. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003417.pdf.
4. Boucher et al. Addendum to the note for guidance on evaluation of medicinal products indicated for treatment of bacterial infections (CPMP/EWP/558/95 REV 2) to address indication-specific clinical data. Clin Inf Dis., 2013.

Host-pathogen interactions in Lyme disease and their application in diagnostics

N.D. van Burgel

Op 29 mei 2013 heeft drs. N.D. van Burgel haar proefschrift getiteld "Host pathogen interactions in Lyme disease and their application in diagnostics" verdedigd in het Academiegebouw van de Universiteit Leiden (promotor: prof. dr. A.C.M. Kroes, copromotor: dr. A.P. van Dam).

Het proefschrift beschrijft de interactie van *B. burgdorferi* sensu lato (sl) met het humane complement. *B. burgdorferi* sensu stricto en *B. afzellei* zijn resistent voor humaan complement door binding van humaan factor H aan Complement Regulatory Acquired Surface Proteins (CRASP) 1 t/m 5. Deze vijf membraaneiwitten komen op verschillende momenten in de infectiecyclus tot expressie. CRASP-1 wordt op het moment van overdracht tot expressie gebracht en is derhalve belangrijk voor een efficiënte infectie. *B. bavariensis* is vrij resistent voor humaan complement, maar voor *B. bavariensis* was nog geen CRASP-1-eiwit beschreven. Enkele genen gelegen op het lineaire plasmide 54 van *B. bavariensis* vertonen veel homologie met de al bekende CRASP-1-eiwitten. Twee gekloneerde recombinanteiwitten van deze familie blijken dan ook humaan factor H- en factor H-like-eiwitten te kunnen binden en op deze manier humaan complement te kunnen inactiveren. De overige homologe gekloneerde eiwitten uit deze familie blijken factor H uit serum van andere diersoorten te kunnen binden. Dit zou deels kunnen verklaren waarom *B. burgdorferi* sl zo efficiënt een groot scala aan diersoorten kan infecteren.

Vervolgens is er in een proefdierexperiment kunstmatig een infectie opgewekt met verscheidene soorten uit het complex van *B. burgdorferi* sl in wildtype en C3-deficiënte muizen. Na twee weken is gekeken naar de load van spirocheten in verschillende organen (PCR, IFA en pathologie). Na twee weken hadden alle complement resistente *B. burgdorferi* (nl.: *B. burgdorferi* ss, *B. afzellei* en *B. bavariensis*) een infectie veroorzaakt, terwijl de complementgevoelige stammen (*B. garinii* en *B. valaisiana*) geen infectie gaven. Dit vond zowel plaats in de C3-/- muizen als in de wildtype muizen. Blijkbaar is de route waarop *B. burgdorferi* sl een infectie geeft niet alleen afhankelijk van de complementresistentie en is een dergelijk model niet goed geschikt om de complementresistentie te bestuderen.

In de volgende hoofdstukken wordt dieper ingegaan op de diagnostiek van neuroborreliose. De C6-peptide EIA wordt in toenemende mate gebruikt voor de serologische diagnostiek naar de ziekte van Lyme. In een studie met 59 neuroborreliose-patiënten en 179 controles bleek dat de test voldoende gevoelig is (97%). Om een voldoende hoge specificiteit te behalen is het berekenen van de antistofindex echter nog steeds essentieel. Daarnaast is gekeken naar de biomarker CXCL13. Deze blijkt, vaak sterk, verhoogd te zijn bij mensen met een neuroborreliose ten opzichte van andere inflammatoire aandoeningen. Uit een studie met 58 neuroborreliose-patiënten en 210 controles blijkt dat de biomarker CXCL13 verhoogd is bij 97% van de neuroborreliose-patiënten, maar ook vaak bij verschillende inflammatoire aandoeningen. Dit betrof met name patiënten met cryptokokkose en patiënten met hiv. CXCL13 lijkt voornamelijk een veelbelovende marker om de diagnose neuroborreliose te kunnen bevestigen.

Als laatste is er in twee grote vroege artritiscohorten gekeken naar de prevalentie van Lyme artritis. Van alle zich presenterende patiënten met vroege artritis bleek 0,8-1,1% een Lyme artritis te hebben. Gezien deze lage incidentie en de seroprevalentie van antistoffen tegen *B. burgdorferi* (2,0-4,5%) blijkt dan ook dat bij willekeurig testen op Lyme de positiefvoorspellende waarde 12-28% is. Door het specifiek preselecteren op basis van klinische parameters van patiënten kan dit maximaal verhoogd worden tot 42-85%.

Diagnostiek naar de ziekte van Lyme zal voorlopig nog zeker een combinatie blijven van klinische gegevens in combinatie met adequate interpretatie van de beschikbare laboratoriumuitslagen. Dit gebeurt bij uitstek door een intensief overleg tussen clinicus en een arts-microbioloog.

N.D. van Burgel, e-mail: n.vanburgel@hagaziekenhuis.nl

Wetenschappelijke Najaarsvergadering NVMM en VIZ



Donderdag 21 november 2013
Stadion Galgenwaard, Herculesplein 241, Utrecht

Ochtendprogramma, plenaire sessies:

Epidemiology of pneumocystis in immunocompromised hosts

Dr. Philippe Hauser, University Hospital Center, Lausanne

De klinische betekenis van de EBV-PCR

Prof. dr. Jaap Middeldorp, VUmc

De klinische betekenis van de CMV-PCR

Dr. Jean-Luc Murk, UMC Utrecht

De klinische betekenis van de STEC/EHEC-PCR

Prof. dr. Alexander Friedrich, UMC Groningen

Middagprogramma, parallelsessies:

Borrelia miyamotoi

Dr. Joppe Hovius, dr. Hein Sprong en dr. Seta Jahfari, AMC/RIVM

De mazelenepidemie

Dr. Rob van Binnendijk, RIVM

Voordrachten op basis van ingestuurde abstracts

Huishoudelijke vergaderingen NVMM en VIZ

Inschrijving

U kunt zich aanmelden voor deelname aan de Najaarsvergadering via www.nvmm.nl.

Kosten

Tot 1 oktober: € 35,- (incl. lunch), over te maken naar 44.63.43.676 t.n.v. de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie te Bilthoven, onder vermelding van 'NVMM/VIZ najaarsvergadering en uw naam. Bij aanmelding na 1 oktober bedragen de kosten € 50,-. Aan de zaal betaalt u € 60,-.

Abstracts

Zie www.nvmm.nl of www.infectieziekten.org voor instructies. De instructies zullen ook via e-mail aan de leden van de NVMM en de VIZ worden toegestuurd. Deadline: 1 oktober.

Accreditatie

De bijeenkomst wordt geaccrediteerd door de NVMM en de VIZ.

Informatie

Heeft u nog vragen, dan kunt u contact opnemen met het secretariaat van de VIZ: secretariaat@infectieziekten.org, of met het NVMM-secretariaat: nvmm@knmg.nl.

Globalisering van de infectieziektebestrijding

Infectieziekten mondiaal gezien: het effect van en op de Nederlandse bestrijding van infectieziekten.

Doelgroep: professionals werkzaam in infectieziektebestrijding, artsen AGZ en JGZ, bedrijfsartsen, huisartsen en medisch microbiologen.

Data: dinsdag 3 en 10 december 2013

Kosten: € 770,-

Locatie: Amsterdam

Link: <http://www.nspoh.nl/page.ocl?pageid=32&id=85>

Inlichtingen: tel.: 020-4097000, e-mail: info@nspoh.nl.

PROMOTIES

24 mei 2013 R.F. de Boer

Molecular Diagnostics for Infectious Gastroenteritis

Promotor: prof. dr. dr. A. van Belkum

Copromotor: dr. ir. A.M.D. Kooistra-Smid

Erasmus MC Rotterdam, afd. Medische Microbiologie & Infectieziekten.

27 juni 2013 K. van der Weerd

Endocrine Regulation of T-cell Development and Peripheral T-cell Maturation

Promotores: prof. dr. P.M. van Hagen, prof. dr. F.J.T. Staal

Copromotor: dr. W.A. Dik

Erasmus MC Rotterdam, afd. Immunologie. LUMC Leiden, afd. Immunohematologie en Bloedtransfusie

4 juli 2013 E.F. Gijsbers

HIV-1 evolution and adaptation to the host during the course of infection

Promotor: prof. dr. H. Schuitemaker

Copromotor: dr. N.A. Kootstra

AMC Amsterdam, afd. Experimentele Immunologie

23 augustus 2013 S.M.T. Camps

Molecular mechanisms of azole resistance in *Aspergillus fumigatus*

Promotor: prof. dr. P.E. Verweij

Copromotor: dr. W.J.G. Melchers

UMCN Nijmegen, afd. Medische Microbiologie

3 september 2013 J.H. van Dijk

Rural Realities in pediatric HIV service delivery

Promotores: prof. dr. H.A. Verbrugh en prof. dr. C.A.B.

Boucher

Copromotores: dr. J.L. Nouwen en dr. W.J. Moss

Erasmus MC Rotterdam, afd. Medische Microbiologie & Infectieziekten. Erasmus MC Rotterdam, afd. Virologie

9 september 2013 T.E. Rams

Antibiotic resistance in human periodontitis and peri-implant microbiota

Promotor(es): prof. dr. A.J. van Winkelhoff, prof. dr. J.E. Degener

Centrum voor Tandheelkunde en Mondzorgkunde (RUG) UMCG Groningen, afd. Medische Microbiologie

12 september 2013 P. Tulinski

Molecular and ecological aspects of MRSA ST398 colonization in pigs

Promotor: prof. dr. J.A. Wagenaar

Copromotores: dr. B. Duim en dr. A. Fluit

Universiteit Utrecht, Faculteit Diergeneeskunde, departement Infectieziekten en Immunologie, UMC Utrecht, afd. Medische Microbiologie

25 september 2013 J.H.C. Tilburg

Molecular investigation of the Q fever epidemic in the Netherlands

Promotor: prof. dr. A. Voss

Copromotor: dr. M.H. Nabuurs-Franssen

UMCN Nijmegen, afd. Medische Microbiologie

26 september 2013 L.J. Maarschalk-Ellebreek

Clinical aspects of Common Variable Immunodeficiency disease

Promotor: prof. dr. A.I.M. Hoepelman

Copromotores: dr. A.M.J. Wensing en dr. N.A. Tesselaar

UMC Utrecht, afd. Interne Geneeskunde & Infectieziekten

9 oktober 2013 A. Kunnen

Periodontitis and Pre-eclampsia

Promotores: prof. dr. F. Abbas en prof. dr. J.G. Aarnoudse

Co-promotores: dr. M.G. van Pampus en dr. M.M. Faas

Centrum voor Tandheelkunde en Mondzorgkunde, UMCG Groningen

UMCG Groningen, afd. Obstetrie en Gynaecologie

28 oktober 2013 K.N. Makamdop

Immune responses and protection induced by whole attenuated *Plasmodium berghei* sporozoites

Promotor: prof. dr. R.W. Sauerwein

Copromotores: prof. dr. I. Joosten (vz), prof. dr. M.G.

Netea, prof. dr. T. van de Poll

Radboud Universiteit Nijmegen. UMC St Radboud,

faculteit der Medische Wetenschappen, afd. Medische Microbiologie

ORATIES

18 juni 2013

prof. dr. A.W. Friedrich

Hoogleraar Medische Microbiologie met leeropdracht
Medische Microbiologie

Titel oratie: "From Fibonacci to Dynamic Networks: art
and science

of maintaining health in a connected life"

UMCG Groningen, afd. Medische Microbiologie

13 september 2013

prof. dr. P.H.M. Savelkoul

Hoogleraar Medische Microbiologie.

Titel oratie: "Gezondheid"

Titel symposium: "Medische Microbiologie 2020: over
grenzen"

MUMC Maastricht, afd. Medische Microbiologie

30 oktober 2013

prof. dr. F.J.M. van Kuppeveld

Hoogleraar Moleculaire Virologie met leeropdracht
Moleculaire Virologie

Titel oratie: "De virussen draaien door"

Universiteit Utrecht (UU), Faculteit Diergeneeskunde,
Departement Infectieziekten en Immunologie, Divisie
Virologie

AFSCHIEDSREDE

6 september 2013

prof. dr. R. de Groot

Ter gelegenheid van zijn afscheid hield prof. dr. R. de
Groot als hoogleraar Kindergeneeskunde zijn afscheids-
college getiteld:

"Een Renaissance Drieluik in de 21e eeuw"

UMCN Nijmegen, afd. Kindergeneeskunde

Verkorte productinformatie Dificlir® 200 mg (januari 2013)

Samenstelling: elke filmomhulde tablet bevat 200 mg fidaxomicine.

Farmacotherapeutische groep: Antidiarreemiddelen, intestinale anti-
inflammatoire/anti-infectiemiddelen, antibiotica, ATC-code: A07AA12.

Therapeutische indicaties: Behandeling van Clostridium difficile-infecties (CDI),
ook wel C. difficile-geassocieerde diarree (CDAD) genoemd. Er dient rekening
te worden gehouden met officiële richtlijnen betreffende het juiste gebruik van
antibacteriële middelen.

Dosering en wijze van toediening: 200 mg (één tablet) tweemaal daags (om
de 12 uur), oraal, gedurende 10 dagen. Dificlir kan met of zonder voedsel worden
ingenomen.

Contra-indicaties: Overgevoeligheid voor het werkzame bestanddeel of voor één
van de hulpstoffen.

Waarschuwingen en voorzorgen bij gebruik: Dificlir dient met voorzichtigheid
gebruikt te worden bij patiënten met ernstig verminderde nierfunctie, matig-
ernstig verminderde leverfunctie, pseudomembraneuze colitis, inflammatoire
darmziekte en fulminante of levensbedreigende CDI.

Interacties: Gelijktijdige toediening van potente P-gp inhibitors waaronder
ciclosporine, ketoconazol, erytromycine, claritromycine, verapamil, dronedarone
en amiodaron wordt niet aanbevolen.

Bijwerkingen: De volgende bijwerkingen deden zich vaak ($\geq 1/100$ tot $< 1/10$)
voor: misselijkheid, braken, obstipatie. In de volledige SPC tekst worden de soms
voorkomende bijwerkingen gemeld.

Afleverstatus: UR.

Volledige productinformatie is op aanvraag verkrijgbaar bij:

Astellas Pharma B.V.

Sylviusweg 62

2333 BE Leiden

PO Box 344

2300 AH Leiden

phone: +31(0)71 545 57 45

fax: +31(0)71 545 58 00

DIFICLIR
fidaxomicine

 **astellas**
Leading Light for Life

AGENDA

1 oktober 2013

Laatste ontwikkelingen van de ICAAC 2013

Marienhof, Amersfoort. Aanvang: 17.30 uur.
<http://www.interactie.org/evenementen/alle-evenementen/all/details/514-post-icaac-highlights-symposium.html>

2-4 oktober 2013

8th European Meeting on Molecular Diagnostics

Kurhaus, Scheveningen
www.molecularmeeting.com

7-11 oktober 2013

OGZ-cursus

Aanmelden via www.rivm.nl

8 oktober 2013

Nederlandse Werkgroep Klinische Virologie (NWKV)

VUmc, Amsterdam
Informatie: Annelies Riezebos-Brilman (secretaris) tel. 050-3616161; www.nvmm.nl/nwkv

11-14 oktober 2013

6th Trends in Medical Mycology

Kopenhagen. <http://www.TIMM2013.org>

17 oktober 2013

All you always wanted to know about decontamination and antibiotic resistance in ICU

Aanvang 9.00 uur.
www.sdd-symposium.nl

29 oktober, 27 november, 12 december

Workshop Labautomatisering Chromatografie

Bodégro, Breda.
www.bodegro.com/workshops

31 oktober 2013

Malditofbijeekkomst

Locatie en programma volgen

31 oktober 2013

Antibioticaresistentie en infectiepreventie in verpleeghuizen

RIVM/C1b

19-22 november 2013

8th World Congress on Pediatric Infectious Diseases

Kaapstad, Zuid-Afrika
<http://w3.kenes-group.com/mailshot/congress/wspid2013/ms3.htm?ref3=db1>

20 november 2013

Nationaal Preventie Debat – Infectieziekten 2013 Let's talk about protection & prevention!

Kasteel de Vanenburg, Putten
<http://www.preventiedebat.nl>
Informatie: BlomBerg Instituut, tel. 073-684 25 25, e-mail: devries@blomberginstituut.nl

2014

20-24 januari 2014

Cursus Infectiepreventie voor AIOS Medische Microbiologie en artsen-microbioloog

Landgoed de Rosep, Oisterwijk
Informatie: e-mail: marjoleinkluytmans@gmail.com

21 januari 2014

Nederlandse Werkgroep Klinische Virologie (NWKV)

Reineir de Graaf Gasthuis, Delft
Informatie: Annelies Riezebos-Brilman (secretaris), tel. 050-3616161, <http://www.nvmm.nl/nwkv>

2-5 april 2014

16th ICID

Kaapstad, Zuid-Afrika
<http://www.isid.org/igid/>

10-13 mei 2014

24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID)

Barcelona
<http://www.congrex.ch/eccmid2014/>

17-20 mei 2014

ASM 2014, 114th General Meeting

Boston, Massachusetts
<http://gm.asm.org/>

6-9 september 2014

54th ICAAC 2014

Washington, DC, USA
[www.http://www.asm.org/index.php/asm-events/icaac2013](http://www.asm.org/index.php/asm-events/icaac2013)

29 oktober - 1 november 2014

16th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies

Praag
<http://w3.kenes-group.com/mailshot/congress/esid2014/ms2.html?ref2=db1>

RICHTLIJNEN VOOR AUTEURS

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

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

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

Door het inzenden van kopij verklaart de auteur:

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

Het manuscript is als volgt ingedeeld:

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

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

Oorspronkelijk onderzoeks- en overzichtsartikel

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

Casuïstiek

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

Van de voorzitter

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

Ingezonden

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

Samenvatting proefschrift

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

Literatuur

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

Voorbeeld:

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

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

Medicamenten of farma

Medicamenten of farma worden alleen met generische naam vermeld.

Nomenclatuur

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

Illustraties

Geïllustreerde manuscripten vergroten de leesbaarheid. Foto's, tabellen en/of figuren dienen digitaal in de vorm van een .jpg-, .jpeg-, .tif- of .bmp-bestand van een hoge resolutie te worden aangeleverd. Figuren dienen vakkundig te zijn vervaardigd. De afbeeldingen moeten zo veel mogelijk contrasterend zijn. Lever bij de figuren en foto's gaarne de onderschriften aan het eind van het document. Op foto's van microscopische preparaten moet een lijnstuk met schaalverdeling zijn aangebracht waaruit de vergrotingsfactor kan worden afgelezen. Pijlen, letters en dergelijke moeten helder (in zwart of wit) tegen de achtergrond afsteken.

Inzenden manuscript

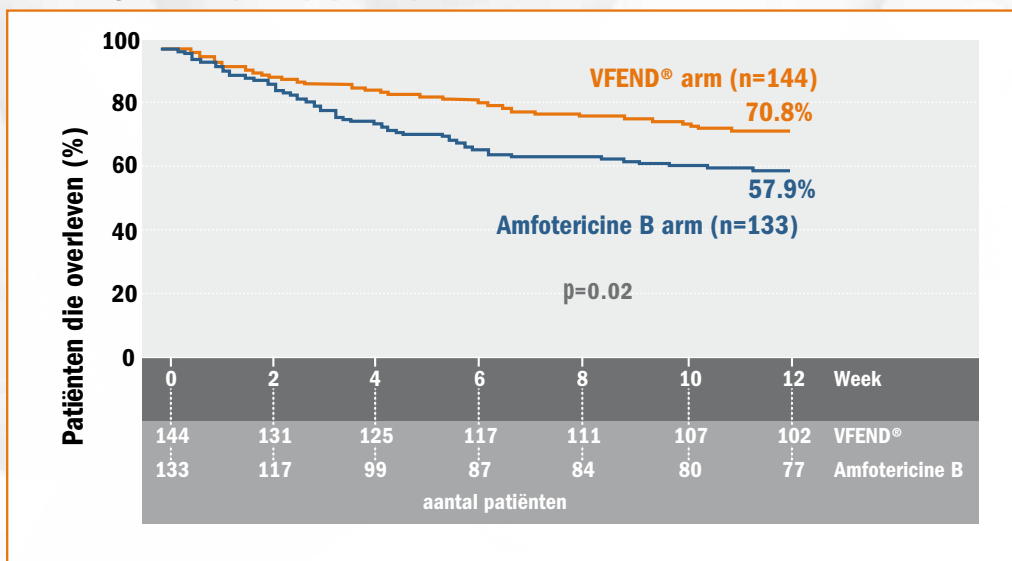
Stuur het manuscript inclusief de aanbiedingsbrief en de tabellen, figuren en foto's naar het redactiesecretariaat, het liefst digitaal per e-mail.

Redactiesecretariaat

Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie
Postbus 2122, 2400 CC Alphen aan den Rijn, tel. 0172-476 191,
fax. 0172-471 882, e-mail: kapteyn@vanzuidencommunications.nl

Red levens met Vfend^{1,2}

Vfend geeft een 13% hogere overlevingskans ten opzichte van Amfotericine B^{1,2}.
Overlevings curves (MITT populatie)[†]



1 JAAR
Levens gered^{1,2}

IV/PO
VFEND[®]
(voriconazole)

Voor productinformatie zie elders in deze uitgave.

Pfizer



Ecalta®

Als medicatieveiligheid telt

- Geen klinisch relevante geneesmiddelen interacties¹⁻⁵
- Geen dosisaanpassing in verband met gewicht, lever- en nierfunctiestoornissen¹⁻⁵



Ecalta™
(anidulafungin IV)
Doeltreffend en gemakkelijk¹⁻⁵