

NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR MEDISCHE MICROBIOLOGIE

Visie

Van de redactie

Artikelen

Het nut van dubbele kweekafname bij screening op MRSA
A.C.A.P. Leenders, M. Pelk, M. Janssen, N.H.M. Renders

De kwaliteitsbewaking van kwalitatief onderzoek
A.J.A. van Griethuysen

Streptococcus pneumoniae: nieuwe inzichten in een 'oud' pathogeen
Chris Neeleman, Marcel van Deuren, Johan Mouton

Casuïstiek

Paarse verkleuring van een urinezak
M. van Lieshout, B.M.W. Diederer

Oratie

Moleculaire filatelie in de medische microbiologie
A. van Belkum

Rubrieken

Index elfde jaargang

2

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 Vereniging.

NVMM-secretariaat

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

Redactie

Dr. A.M. Horrevorts, hoofdredacteur
Mw. Dr. I.A.J.M. Bakker-Woudenberg/
Dr. A. Fleer/Dr. T. van Gool/
J.A. Kaan/Mw. L.M. Kortbeek/
Dr. J.G. Kusters/Dr. J.F.G.M. Meis/Dr. M.F. Peeters/
Prof. dr. H.A. Verbrugh

Eindredactie

Mw. G. Brouwer
Van Zuiden Communications B.V.
Postbus 2122, 2400 CC Alphen a/d Rijn
Telefoon (0172) 47 61 91, fax (0172) 47 18 82
E-mail brouwer@zuidencomm.nl

Oplage

800 exemplaren, 4 x per jaar

Abonnementen

€ 35,- per jaar voor niet-leden van de NVMM,
Europa € 42,50 per jaar, losse nummers € 10,20.
Opgave abonnementen: telefoon (0172) 47 61 91

Advertentie-exploitatie



Van Zuiden Communications B.V.
Telefoon (0172) 47 61 91

Auteursrecht en aansprakelijkheid

©Van Zuiden Communications B.V., 2004
Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vervoelvoudigd, 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 auteurs verklaren dat deze uitgave op zorgvuldige wijze en naar beste weten is samengesteld; evenwel kunnen uitgever en auteurs op geen enkele wijze instaan voor de juistheid of volledigheid van de informatie. Uitgever en auteurs 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 welke zijn gedeponeerd bij de Kamer van Koophandel te Amsterdam.

ISSN 0929-0176

Visie 38

Van de redactie 39

Artikelen

Het nut van dubbele kweekafname bij screening op MRSA
A.C.A.P. Leenders, M. Pelk, M. Janssen, N.H.M. Renders 40

De kwaliteitsbewaking van kwalitatief onderzoek
A.J.A. van Griethuysen 43

Streptococcus pneumoniae: nieuwe inzichten in een 'oud' pathogeen
Chris Neeleman, Marcel van Deuren, Johan Mouton 48

Casuïstiek

Paarse verkleuring van een urinezak
M. van Lieshout, B.M.W. Diederens 53

Oratie

Moleculaire filatelie in de medische microbiologie
A. van Belkum 55

Rubrieken

Ingezonden 64

- De diagnostiek en behandeling van *Helicobacter pylori*-infecties volgens de multidisciplinaire richtlijn 'Maagklachten'
A.A. van Zwet
- Cursus in Tropische Geneeskunde en Reizigersgeneeskunde, Havana, Cuba
Jacques F. Meis

Personalia 66

Promoties 67

Agenda 70

Index elfde jaargang 71

Strategie infectieziektebestrijding

In maart 2004 heeft de ministerraad ingestemd met de strategie infectieziektebestrijding van minister Hoogervorst van Volksgezondheid, Welzijn en Sport (VWS). Eerder had de minister in een strategiebrieven aan de Tweede Kamer zijn beleidsvoornemens ten aanzien van de infectieziektebestrijding uiteengezet. Hij stelt hierin dat de huidige structuur van de infectieziektebestrijding is gebaseerd op de 'oude' overzichtelijke infectieziekteproblematiek en niet meer voldoet aan de eisen van deze tijd.

De gemeenten zijn verantwoordelijk voor preventie en bestrijding van infectieziekten bij de gehele bevolking. De basis daarvoor is de Wet Collectieve Preventie Volksgezondheid (WCPV) en de Infectieziektewet.

De nieuwe strategie is gericht op het totstandbrengen van inhoudelijk uniform beleid en goede afstemming op nationaal niveau. Het is het streven van het kabinet om ten tijde van crisis tot een aanpak vanuit de centrale overheid te komen. Zowel WCPV als Infectieziektewet gaan uit van een lokale overheid. Als compensatie bij landelijke (dreigende) epidemieën (SARS, aviariae influenza, meningococcenziekte) zijn eerder het *Outbreak Management Team* (OMT) als platform van inhoudelijk deskundigen en het Bestuurlijk Afstemmingsoverleg (BAO) ingesteld. Het BAO vertaalde de adviezen van de inhoudelijke deskundigen in concrete maatregelen van de minister en verantwoordelijke lokale autoriteiten.

De minister wil komen tot inhoudelijk uniform beleid bij de infectieziektebestrijding en goede afstemming op nationaal niveau. Daartoe wil hij op korte termijn oprichten een 'Infectieziekteautoriteit' (IZA). De IZA wordt straks – zo staat het in de strategiebrieven – de professionele schakel tussen praktijk, wetenschap en beleid. De volgende taken voor de IZA worden genoemd:

- bundeling infectieziektebestrijding o.a. door het verzamelen en analyseren van nationale en internationale gegevens en waarschuwen bij dreigende risico's, alsmede het bevorderen van samenwerking tussen of fusie van instanties die zich met verschillende vormen van infectieziektebestrijding bezig houden;
- communicatie namens de rijksoverheid naar de bevolking, en communicatie en afstemming met internationale organisaties zoals het *European Centre for Disease Prevention and Control* dat in 2005 in Stockholm van start gaat en de Wereldgezondheidsorganisatie;
- ondersteunen van beroepsbeoefenaren met adviezen op het gebied van de infectieziektebestrijding en centraal aansturen bij (voorbereiding op) dreiging of uitbraken met grote of acute volksgezondheidsdreiging.

De IZA krijgt ook een rol in het coördineren en afstemmen van (overheidsgefinancierd) onderzoek en opsporen en signaleren van infecties (surveillance). De IZA zal de inhoud van het landelijk uniforme beleid straks bepalen.

In de strategiebrieven van de minister wordt ook nog melding gemaakt van het traject 'Versterking Infrastructuur Infectieziektebestrijding' (VISI) dat gemeenten en GGD-Nederland hebben uitgevoerd de afgelopen drie jaren. Eén van de conclusies was dat de deskundigheid van de GGD'en op het gebied van de reguliere infectieziektebestrijding verbeterd diende te worden.

De IZA wordt een onderdeel van VWS en zal zeer waarschijnlijk gehuisvest worden binnen het RIVM.

Het bestuur van de NVMM en de leden van de NVMM-werkgroep Openbare gezondheidszorg en infectieziekten staan zeer welwillend tegenover de beleidsvoornemens van minister Hoogervorst. Landelijke coördinatie is een goede zaak. OMT en Landelijke Coördinatiestructuur Infectieziektebestrijding (LCI), structuren waarin vertegenwoordigers namens de NVMM zitting hebben, zullen in hun huidige vorm verdwijnen en opgaan in de IZA.

Drs. J.J.M. van Dijk is inmiddels aangetrokken als 'kwartiermaker'. Om in 2005 van start te kunnen gaan met de nieuwe organisatie is inmiddels een stuurgroep benoemd, alsmede een begeleidingsgroep en een projectgroep met in deze groepen mensen vanuit het RIVM, de IGZ, VWS en GGD-Nederland. Puur vanuit instellingen die zo allemaal hun eigen belang hebben. Onze wetenschappelijke vereniging is weliswaar persoonlijk geïnformeerd met betrekking tot de IZA, echter niet uitgenodigd te participeren in een van de groepen die handen en voeten moeten geven aan de IZA en de uiteindelijke positie ervan moeten gaan bepalen.

Mensen vanuit de praktijk (de curatieve gezondheidszorg met haar diagnostische (streek-) laboratoria en de universitaire onderzoekscentra moeten kunnen aanschuiven en meepraten over de nieuwe IZA. Wij hopen dat wij daartoe alsnog worden uitgenodigd. Wij hebben dit de minister laten weten.

Dr. M.F. Peeters, arts-microbioloog, voorzitter Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie, Streeklaboratorium voor de Volksgezondheid, St. Elisabeth Ziekenhuis, Postbus 747, 5000 AS Tilburg

Van het kastje naar de muur!

Professionele verantwoordelijkheid versus managementverantwoordelijkheid in het geïntegreerd medisch-specialistisch bedrijf

Een gebroken been is nooit fijn; meestal wordt er gips omheen gedaan, soms moet er meteen operatief worden ingegrepen. Wat kan er gebeuren als de breuk desondanks niet wil helen? Dat hangt af van de oorzaak. Het komt voor dat door vertraagde botgroei de gebroken botuiteinden niet aan elkaar willen hechten. Daar moet wat aan gedaan worden. De chirurg vertelt de patiënt dat hij twee mogelijkheden heeft om te helpen. De eerste is een operatie en de tweede is een kastje om het been dat met radiogolven de botgroei stimuleert. De chirurg vertelt erbij dat het kastje in 70% van de gevallen in zes tot 12 weken tot succes leidt. "Geef mij dat kastje maar", zeggen de meeste patiënten. De chirurg vindt dat een verstandige keuze.

Voorheen vulde de chirurg het behandelbriefje in en het kastje werd aangelegd. Dat is niet meer zo! De chirurg moet nu een aanvraag indienen om het kastje te mogen bestellen. De aanvraagbon gaat met de interne post naar een daartoe bevoegd manager. Deze moet er zijn handtekening onder zetten anders wordt er niet besteld. De manager wikt en weegt en vraagt zich af of er nog wel budget is en of er goedkopere kastjes op de markt zijn. De strategisch inkoper wordt ingeschakeld. Hij krijgt de opdracht een verkennend marktonderzoek uit te voeren. Diens eindconclusie is dat er in Nederland maar één merk kastje leverbaar is en wat vervelender is, er is ook maar één leverancier. Er valt dus niet strategisch in te kopen.

In de tussentijd gaat de patiënt naar huis, hij wacht de oproep af om op de polikliniek te verschijnen en daar van de chirurg te horen of hij wel of niet in aanmerking komt voor een kastje. Als de patiënt tegen de chirurg had gezegd: "Dokter, ik ga niet wachten op dat kastje, opereert u mij maar", dan was er – als de chirurg zou hebben toegestemd – geen bestelbon, geen manager en geen strategisch inkoper aan te pas gekomen. Dan is er sprake van professionele verantwoordelijkheid, daarin willen managers niet treden. De chirurg moet de patiënt wijzen op de risico's van de ingreep. Heeft de patiënt ook een hartkwaal, diabetes en een astmatische aanleg, dan is het verstandig dat hij vooraf eventjes (de afzonderlijke wachtlijsten daargelaten) door de cardioloog, internist en longarts wordt gezien. Als zij hun zegje hebben gedaan, moet de patiënt met de verzamelde gegevens langs het preoperatief spreekuur van de anesthesist; je komt anders de OK niet op.

Al dit professionele handelen staat in het teken van kwaliteit. En als de patiënt aan de vooravond van de operatie in een ziekenhuisbed tegen een kale, witte muur ligt aan te kijken en na maanden 'gedokter' eindelijk de tijd en rust heeft om eens na te denken over wat hem is overkomen, dan denkt hij aan dat kastje. Als hij tot die 70% had behoord, dan had hij allang weer gelopen. Hij denkt aan de risico's van de operatie en aan het succespercentage, ook 70%. Hij ziet in gedachten weer de rekeningen langskomen van de chirurg, de cardioloog, de internist, de longarts, het laboratoriumonderzoek, het röntgenonderzoek, het hartfilmpje en het longfunctieonderzoek. En die van deze opname komt nog. Hoe duur is zo'n kastje eigenlijk en is zo'n kastje maar één keer te gebruiken? Hij weet niets van de zorgsector, hij is manager in de profit-branch. Hij analyseert de situatie aan de hand van een 'als dit of als dat'-beslisboom, dat heeft hij geleerd op een managementcursus. Het komt hem voor dat alle gangen die hij in zijn rolstoel (gehuurd) heeft moeten bewandelen om in het bed te belanden waarin hij nu ligt, duurder moeten zijn dan zo'n kastje dat, al zijn ze niet hoorbaar, alleen maar geluidsgolven uitzendt. Wat kost een transistorradiootje vandaag de dag? Wat ook uit de beslisboom valt is, dat hij als manager op deze wijze nooit invloed zou willen hebben op de keuze van welke medische behandeling dan ook. Overziet de manager die de aanvraag van het kastje afwijst wel wat de patiënt dan aan alternatieven te wachten staat? Eventjes waant de profitmanager zich professional in de zorg: 'Wat zou het prachtig zijn als ik als professional dan zou kunnen profiteren van een non-profitmanager.' Tot slot aan managers in de zorg; hij zegt het wat krom, maar hij bedoelt het goed, die profitmanager.

Alphons M. Horrevorts, Afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten, Canisius Wilhelmina Ziekenhuis, Nijmegen

Het nut van dubbele kweekafname bij screening op MRSA

A.C.A.P. LEENDERS, M. PELK, M. JANSSEN, N.H.M. RENDERS

In de richtlijn Detectie meticillineresistente *Stafylococcus aureus* wordt voor de screening op MRSA bij gebruik van een ophopingsmedium ervan uitgegaan dat enkelvoudige kweken gevoelig genoeg zijn. Tijdens een recente MRSA-epidemie in het Jeroen Bosch Ziekenhuis werden meer dan 20.000 MRSA-kweken afgenomen, merendeels als onderdeel van een dubbele kweek. Retrospectief vonden wij dat in 75/188 kweken (40 procent) waarin MRSA werd gevonden, MRSA slechts in één wattendrager werd gevonden. Wij concluderen dat, ook bij het gebruik van een ophopingsmedium, minimaal een dubbele kweek nodig is voor adequate screening op MRSA.

Trefwoord: MRSA-screening

Inleiding

Recentelijk is door de commissie MRSA de richtlijn 'Detectie meticillineresistente *Stafylococcus aureus* in Nederland' aangeboden aan de leden van de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie.¹ In deze richtlijn wordt gemeld dat de optimale hoeveelheid kweken in relatie tot de gehanteerde methode niet bekend is maar dat bij gebruik van een ophopingsmedium één afname in principe volstaat.

In de periode van maart tot september 2002 werd het Jeroen Bosch Ziekenhuis (JBZ) te 's-Hertogenbosch geconfronteerd met een MRSA-epidemie. In deze periode werden 31 patiënten en 14 medewerkers gediagnosticeerd als drager van of geïnfecteerd met MRSA. Er werden meer dan 20.000 MRSA-kweken afgenomen, waarvan het overgrote merendeel onderdeel was van een dubbele kweek. Retrospectief werd beoordeeld wat de opbrengst van deze kweken was.

Materiaal en methode

1. Protocol kweekafname en verwerking

Binnen het JBZ geldt het volgende protocol voor screening op MRSA. Dubbele kweken worden direct na elkaar afgenomen. Minimaal worden dubbele keel/neuskweken (met een wattenstok worden eerst de tonsilbogen en daarna met dezelfde stok de beide neusgaten uitgestreken) en dubbele kweken van alle wonden en/of niet natuurlijke openingen van de huid genomen. Bij aanwezigheid van een urinekatheter wordt tevens een urinekweek en bij hoesten een sputumkweek ingezet. Indien in de screening MRSA gevonden wordt, worden tevens dubbele perineumkweken en dubbele kweken van keel en neus apart afgenomen. Medewerkers ondergaan een strooiproef.

Alle materialen die op een wattendrager worden aangeboden, worden uitgestreken op een bloedagarplaat (BA) en vervolgens in een ophopingsmedium gestopt. Zowel de BA als het ophopingsmedium worden geïncubeerd bij 37 graden Celcius gedurende ≥ 48 uur. Beoordeling van beide media vindt na 24 en 48 uur plaats.

2. Ophopingsmedium

Als ophopingsmedium wordt gebruikgemaakt van een 'phenol-mannitol broth', normaliter selectief gemaakt door de

toevoeging van aztreonam 75 mg/l en ceftizoxim 5mg/l, waarin phenol-rood als indicator aanwezig is. Ten tijde van de beschreven epidemie bleek er geen aztreonam als grondstof te kunnen worden geleverd waardoor de buizen alleen met ceftizoxim werden bereid. Gezien de lage MIC van de betreffende MRSA voor oxacilline werd aan het begin van de epidemie besloten de hoeveelheid ceftizoxim te halveren.

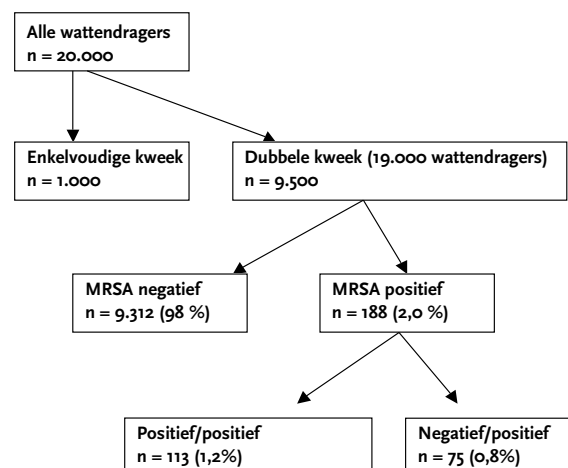
3. Uitwerken kweken

Ieder verkleurd ophopingsmedium wordt afgeënt op een BA. Iedere verdachte stafylokok wordt geïdentificeerd en indien het *S. aureus* betreft aangeboden voor gevoeligheidsbepaling. Indien de gevoeligheidsbepaling daartoe aanleiding geeft (resistentie voor een antibioticum anders dan penicilline) wordt een mecA-bepaling verricht.

De primair beënte BA wordt alleen beoordeeld op de aanwezigheid van *Pseudomonas* spp. en *Proteus* spp. Bij groei van *Pseudomonas* worden ook niet verkleurde ophopingsmedia verder in bewerking genomen om het risico dat door groei van *Pseudomonas* in dit medium de groei van MRSA niet wordt gedetecteerd te elimineren. Bij groei van *Proteus*, wordt het ophopingsmedium niet op een BA maar op een manitol-zout-agar (MSA) afgeënt.

Resultaten

Figuur 1. Resultaten van alle kweken genomen tijdens de MRSA-uitbraak.



1. Aantal kweken

In de periode van 13 maart 2002 tot en met 1 november 2002 werden tussen 20.000 en 20.500 wattendragers voor screening op MRSA aangeboden. In meer dan 95 procent waren de wattendragers onderdeel van een dubbele kweek (9.500 dubbele kweken) (figuur 1).

2. Kweekresultaten (tabel 1)

Tabel 1. Resultaten van dubbele kweken van alle patiënten en medewerkers met op zijn minst een kweek positief voor MRSA.

KWEEKRESULTAAT	NEG./NEG.	NEG./POS.	POS./POS.
Aantal kweken			
van patiënten	317	61	105
Aantal kweken			
van medewerkers	347	14	8

MRSA werd gevonden in kweken van 31 patiënten en 14 medewerkers. Van de 31 MRSA-positieve patiënten werden in totaal 483 setjes (966 wattendragers) afgenomen. In 166 setjes werd MRSA aangetoond. In 105/166 setjes werd MRSA gevonden in beide wattendragers. In 61 gevallen (37 procent) was slechts een van beide wattendragers positief. Zes patiënten hadden alleen maar setjes waarvan slechts een van beide wattendragers positief was en bij vijf andere patiënten was dit het geval in de eerst gevonden positieve set. Bij de 14 medewerkers die positief werden gevonden werden 369 setjes afgenomen. In 22 setjes werd MRSA aangetroffen. In 14 gevallen (64 procent) was slechts een van beide wattendragers positief. Elf van de 14 medewerkers hadden alleen maar setjes waarin slechts een van beide wattendragers MRSA opleverde.

3. Materiaal soort enkelvoudig positieve kweken

Enkelvoudig positieve kweken werden in allerlei patiëntenmaterialen gevonden (tabel 2). Bij de gevonden MRSA-positieve medewerkers ging het in het merendeel van de gevallen om een gecombineerde keel/neuskweek (tabel 2).

Tabel 2. Materiaal soort van dubbele kweken met een negatief/positief resultaat.

MATERIAALSOORT	PATIËNTEN	MEDEWERKERS
Combinatie neus/keel	17	11
Neus	9	2
Keel	9	0
Perineum	6	1
Wond/huid	20	0
Alle	61	14

Discussie

In verband met het ontbreken van voldoende onderzoek wordt in een recent advies aan de NVMM-leden aanbevolen om - indien bij MRSA-screening gebruik wordt gemaakt van een ophopingsmedium - een enkele kweek af te nemen. Omdat wij uit ervaring het idee hadden dat wij vaak maar één van beide kweken positief vonden bij onze MRSA-screening hebben wij in ons ziekenhuis voorlopig het oude protocol van dubbele kweekafname niet aangepast. Om na te gaan of ons vermoeden door getallen ondersteund kon worden, heb-

ben wij bovenstaand retrospectief onderzoek gedaan. Het bleek dat in ruim een derde van de aangeboden dubbele kweken slechts een van beide materialen MRSA opleverde. Helaas was niet meer terug te zoeken of dit de eerst- of laatstgenomen kweek betrof. Beide kweken worden in ons ziekenhuis tegelijkertijd afgenomen en wij vragen niet om de materialen van een nummer te voorzien. Ook indien de verhouding eerste versus tweede kweek positief fifty-fifty zou zijn, zouden we bij enkelvoudige kweekafname een op de zes positieve kweken gemist hebben. Wij vinden dit een onacceptabel hoog percentage. In de recente epidemie in ons ziekenhuis zouden 11/31 patiënten (35 procent) mogelijk gemist zijn indien maar een kweek was afgenomen; zes patiënten hadden alleen maar kweeksets waarvan slechts in een wattendrager MRSA werd gevonden, vijf anderen hadden een dergelijke kweek als eerste positieve kweek. Bij deze laatste groep patiënten is het voorstelbaar dat zonder positieve kweek geen vervolgekweken zouden zijn afgenomen. Verschillende verklaringen zijn te bedenken voor het verschil in uitslag tussen eerste en tweede kweek. Ten eerste kan het zijn dat indien een van beide kweken reeds positief is gevonden, de tweede kweek minder aandacht krijgt; deze heeft tenslotte geen gevolgen meer voor de patiënt. Echter binnen ons laboratorium wordt gebruikgemaakt van een medium met kleuromslag waarbij iedere verkleurde buis wordt afgeënt en verder bekeken. Het aflezen van deze media gebeurt batchgewijs, zonder dat een analist kan zien of de andere helft van de dubbele kweek al positief is. Verder zijn aan het begin van de epidemie alle niet verkleurde buizen een tijd lang afgeënt. In deze afentingen werd nimmer MRSA aangetroffen.

Een andere mogelijkheid is dat met de eerste wattenstok veel storend materiaal wordt weggenomen (korsten, slijm, pus etc.). In de tweede kweek is minder van dit materiaal aanwezig waardoor betere detectie van MRSA kan plaatsvinden. Indien dit inderdaad een rol speelt, pleit dit voor ons protocol waarin beide kweken direct na elkaar worden afgenomen. Strikt theoretisch zou men ook andersom kunnen redeneren. Bij de eerst kweekafname wordt een grote hoeveelheid bacteriën weggenomen waardoor bij de tweede afname geen MRSA meer wordt gevonden. Gezien de gevoeligheid van de gebruikte ophopingsmedia lijkt dit echter niet waarschijnlijk. Ten slotte bestaat de mogelijkheid dat een van beide wattenstokken niet gebruikt is. Dit zou echter in het laboratorium moeten blijken doordat dan geen enkele groei op de BA te zien is, iets wat maar sporadisch voorkomt.

Bij de medewerkers zien we een typisch beeld. Bij 11 medewerkers werd MRSA slechts in een enkele wattendrager gevonden. Het betrof hier in alle gevallen een gecombineerde keel/neuskweek. Bij verdere screening werd nooit MRSA aangetroffen. Ondanks dat afname bij medewerkers altijd minimaal 24 uur na het laatste contact met de MRSA-positieve patiënt plaatsvindt, denken wij hier toch te maken te hebben met 'transient' dragerschap. Het belang van dubbele kweken bij deze groep medewerkers kunnen we met deze studie dus niet hard maken. Dit mogelijk transiente dragerschap werd overigens nooit bij patiënten gevonden. Concluderend zijn wij van mening dat gezien het zeer hoge aantal dubbele MRSA-kweken waarvan MRSA maar in een van beide wattendragers gevonden wordt, ook bij het gebruik van een ophopingsmedium, minimaal twee gelijktijdig afgenomen kweken nodig zijn om een goede screening op MRSA te waarborgen.

Summary

Recently, the Dutch Federation of Medical Microbiology developed a guideline for screening patients for MRSA. In this guideline, single cultures can be taken from nose and throat provided an enrichment broth is used. During a MRSA outbreak in the Jeroen Bosch Hospital, 20.000 materials were cultured for MRSA. We retrospectively studied the use of double cultures during this outbreak and found that 75/188 (40%) of MRSA positive cultures were only positive in one of both swabs. We concluded that a good screening for MRSA should consist of at least two swabs of all places to be cultured, even when placed in an enrichment broth.

Literatuur

1. Griethuysen A van, Neeling H de, Vandenbroucke-Grauls C, Vos G, Kluytmans J. Richtlijn Detectie van meticillineresistente *Stafylococcus aureus* in Nederland. Ned Tijdschr Med Biol 2003;11:58-64.

Dr. A.C.A.P. Leenders, Mevr. M. Pelk, Mevr. M. Janssen, Mw. Dr. N.H.M. Renders

Allen: Jeroen Bosch Ziekenhuis, Postbus 90135, 5200 ME 's-Hertogenbosch.

Correspondentieadres: Dr. A.C.A.P. Leenders, e-mail: a.leenders@JBZ.nl

BOEKBESPREKING

Men, Microbes and Medical Microbiologists

A concise Pictorial History of Medical Microbiology and Infectious Diseases

AUTEUR: HAN T. SIEM. UITGEVER: ERASMUS PUBLISHING ROTTERDAM 2004.

ISBN: 90 5235 169 4; PRIJS: € 85,00.

Dr. Han T. Siem, erelid van de Nederlandse Vereniging van Medische Microbiologie, heeft zich na zijn pensionering in 2000 gevestigd in Florida en is daar op zijn manier druk bezig geweest met de medische microbiologie. Hij heeft er namelijk een boek over geschreven. Tijdens de NVMM-voorjaarsvergadering op 7 april jl. in Papendal heeft hij het eerste exemplaar van 'Men, Microbes and Medical Microbiologists' officieel aangeboden aan de voorzitter van de NVMM. Tijdens zijn inleiding vertelde hij dat zijn tijd bij de NVMM duidelijk aanwijsbare invloed op de inhoud van het boek heeft gehad. Het boek bestaat uit twee delen.

Deel 1 - MICROBES, MICROBIOLOGISTS AND MEDICINE. *A concise history of medical microbiology.*

Deel 2 - MEN, MICROBES AND EPIDEMICS. *Infectious diseases and epidemics through the ages.*

Een groot aantal capita selecta uit de geschiedenis van de medische microbiologie en infectieziekten wordt beschreven, geïllustreerd met elementen uit de thematische filatelie. Filatelie, zo heeft Han Siem ons al tijdens zijn vroegere voordrachten voor de Werkgroep Oost duidelijk gemaakt, houdt zich niet alleen bezig met postzegels, maar ook met postkaarten, bedrukte enveloppen, poststempels, postlabels, e.d. Han hield zich bezig met thematische filatelie, thema: medische microbiologie en infectieziekten. Een enorm boeiende collectie heeft hij hierbij opgebouwd.

In het meer dan 300 pagina's tellende boek wordt de geschiedenis van de medische microbiologie en infectieziekten be-

NVMM-erelid dr. Han Siem bij het aanbieden van het eerste exemplaar van zijn boek aan de voorzitter van de NVMM tijdens de voorjaarsvergadering op 7 april 2004.



schreven aan de hand van postzegels en poststukken. Materiaal vanuit de filatelie geeft soms historische details die elders in de traditionele literatuur over dat onderwerp niet worden genoemd. Het boek is zonder meer uniek. Niet voor niets won Han Siem met zijn tentoonstelling 'Microbes and Men' de gouden medaille op 'The International Thematic Philatelic Exhibition Genova 1992.

Men, Microbes and Medical Microbiologist is in strikte zin geen studieboek. Het is gewoon een boek om te hebben en nooit meer weg te doen.

Dr. M.F. Peeters, Streeklaboratorium voor de Volksgezondheid, Postbus 747, 5000 AS Tilburg

De kwaliteitsbewaking van kwalitatief onderzoek

A.J.A. VAN GRIETHUYSEN

Over de kwaliteitsbewaking van kwalitatief onderzoek in medische laboratoria is betrekkelijk weinig vastgelegd in de Praktijkrichtlijn van de CCKL¹ en in de ISO-norm 15189².

In dit artikel wordt eerst ingegaan op de betekenis van de term kwaliteiten. De uitkomst (positief of negatief) van een proef (test) is een kwaliteit, die afgeleid wordt van het resultaat van een bepaling. De bepaling kan kwantitatief of kwalitatief van aard zijn. De uitkomst van de proef dient om hypothesen te toetsen (to test) die zijn geformuleerd in een onderzoek.

Mogelijkheden voor kwaliteitsbewaking van kwalitatieve bepalingen worden besproken. Uitgaande van bepalingen of aflezingen in duplo, en van proeven op basis van twee of meer bepalingsmethoden, wordt het kwantificeren van discrepante resultaten aanbevolen. Analoog aan de Shewhart-kaarten voor kwantitatieve bepalingen wordt een methode voorgesteld om deze grafisch weer te geven en statistisch te bewerken.

De kwaliteit van algemeen onderzoek wordt vooral geborgd door klinische validatie, autorisatie en terugkoppeling van resultaten.

Trefwoorden: Quality control, Qualitative Shewhart

Inleiding

De Praktijkrichtlijn Laboratoria Gezondheidszorg¹ is een belangrijk hulpmiddel voor het opzetten van een kwaliteitsstelsel in medische laboratoria. Deze richtlijn was één van de eerste documenten op dit gebied. Zij speelde een belangrijke rol bij het totstandkomen van de ISO-norm 15189.² De accreditatie van medische laboratoria door de CCKL gebeurt aan de hand van de normen en eisen uit de Praktijkrichtlijn, die zich zal moeten conformeren aan de Europese Richtlijn.

De Beleidsadviescommissie Accreditatiezaken (BAZ) van de CCKL bereidt op dit moment de vierde druk van de Praktijkrichtlijn voor. Enkele vertegenwoordigers van beroepsverenigingen (pathologie, medische microbiologie) brachten naar voren, dat weliswaar de kwantitatieve bepalingen in de genoemde richtlijnen goed behandeld worden, maar dat aan kwalitatief onderzoek veel minder aandacht wordt besteed. Ook in de literatuur is hierover betrekkelijk weinig te vinden. Het voorbeeld voor een onderzoeksprotocol in het Model Kwaliteitshandboek Medische Microbiologie³ kan worden gezien als een eerste benadering van dit probleem.

Iedere laboratoriummedewerker weet wel ongeveer wat kwalitatief betekent, maar het is minder eenvoudig om dit precies te definiëren. Dit artikel begint dan ook met een beknopte omschrijving van de belangrijkste begrippen die hierop betrekking hebben. Daarop gebaseerd worden de belangrijkste aspecten van de dagelijkse kwaliteitsbewaking van proeven en van laboratoriumonderzoek behandeld, en wordt een methode voor kwantitatieve kwaliteitsbewaking voorgesteld.

Begripsomschrijving

Kwaliteit

Met kwaliteiten (hoedanigheden) worden beoordelingen bedoeld die in tegenstellingen worden uitgedrukt. In het normale taalgebruik zijn dit vaak woordparen, zoals 'warmte: koud-warm', 'schoonheid: mooi-lelijk', 'grootte: groot-klein'. Van bijna elk woord is zo'n tegenstelling te maken door er '(wel)-niet', '(wel)-geen' voor te zetten: 'wel groot-niet groot'; 'wel agglutinatie-geen agglutinatie'. Een kwaliteit kan weer worden onderverdeeld (gegradeerd) met een kwaliteit: bv. met 'mate: heel-een beetje': 'heel groot-een beetje groot'; 'heel klein-een beetje klein'.

In de uitkomst van proeven gebruikt men 'positief-negatief', ook wel '+' en '-' voor de kwaliteit van een kenmerk. Kenmerken⁴ zijn de basis voor definities; men kan er daarom hypothesen mee toetsen. Een kenmerk is een relatie (ook wel eigenschap genoemd) van een object met een onderwerp: 'urine met leukocyten (leukocyturie)'; 'IgG-anti-rubella', waarvoor de uitkomst positief of negatief is. De voorbeelden geven aan dat het object soms wel en soms niet het uitgangsmateriaal is.

De hierboven beschreven tegenstellingen zijn te beschouwen als interpretaties van 'TRUE-FALSE' in de logica.

Bepaling

De uitkomst van een proef wordt afgeleid van de waarde van een bepaling. In het laboratorium komt deze bepaling tot stand na bewerken van het monster.

Uit een kwantitatieve bepaling, door middel van meting (bv. spectrofotometrie in een ELISA) of op basis van telling (bv. kolonies in een urinekweek), resulteert een kwantitatieve waarde die wordt uitgedrukt in S.I.-eenheden of een ratio.

Uit een **kwalitatieve** bepaling, een aflezing 'op het oog', resulteert een kwalitatieve waarde. Waarden die niet tot S.I.-eenheden of tot een ratio herleid kunnen worden, worden beschouwd als kwalitatief (ordinaal). De waarde wordt gebaseerd op het wel of niet waarneembaar zijn van een reactie (-product) die als + of - wordt geïnterpreteerd.

Deze kwaliteit kan nog kwalitatief worden onderverdeeld door middel van een graad (gradus (latijn): trede, rang⁵) op een schaal (scala (italiaans): trap, ladder⁵). De temperatuurschaal was oorspronkelijk kwalitatief. Een graad kan vaak zowel in woorden als in getallen (rangtelwoorden met een symbool: °, +, -) worden uitgedrukt. De graad wordt vastgesteld op basis van:

- een bepaalde intensiteit van de reactie (agglutinatie: geen, zwak, matig, sterk);
- de (+)-reacties in een verdunningsreeks (titer 1:16+, MRC);
- in gericht onderzoek (zie hieronder), een hoeveelheid die 'semi-kwantitatief' (geen, enkele, veel; 0-, 2+) wordt weergegeven.

In gericht onderzoek kan ook een nauwkeurige telling worden uitgevoerd, die kwantitatief als een ratio of een concentratie kiemen/ml wordt weergegeven.

Onderzoek en proef

Klinisch diagnostisch **onderzoek** kan goed worden beschreven met de methode van de Klinische Probleem Analyse (KPA)^{6,7} die gebaseerd is op het werk van Weed^{8,9}. KPA biedt een systematische methode voor het oplossen van complexe problemen en het systematisch vastleggen ervan. Zij vindt veel toepassing in het medisch onderwijs. KPA kan ook, met beperkte aanpassingen, als basis dienen voor de beschrijving van medisch laboratoriumonderzoek¹⁰ (**algemeen onderzoek**). In plaats van een diagnose betreft het onderzoek dan bv. de determinatie van een micro-organisme in de medische microbiologie, of de classering van een tumor in de pathologie.

In het onderzoeksproces worden op basis van geformuleerde problemen **hypothesen** opgesteld, die getoetst moeten worden. Dat toetsen (*to test*) gebeurt aan de hand van kenmerken waarmee men de hypothesen kan onderscheiden. In het klinisch diagnostisch onderzoek kan dit toetsen door de behandelend arts zelf worden gedaan, of door een beeldvormend of laboratoriumspecialist. Soms is hiervoor aanvullend - algemeen of gericht - onderzoek nodig. Andere kenmerken kunnen experimenteel door middel van proeven worden aangetoond.

Onder een **proef** (*test, testprocedure*) wordt verstaan een gestandaardiseerd experiment, waarin materiaal zodanig bewerkt wordt dat een reactie ontstaat, waarvan de waarde eenduidig bepaald kan worden. Van deze bepaling wordt de proefuitkomst volgens logische regels afgeleid, door vergelijking met referentiewaarden. De uitkomst, positief of negatief, geeft aan of een kenmerk in het materiaal aangetoond is. Soms is de uitkomst 'onbepaald' (*indeterminate*).

Een **gericht onderzoek** (*examination*) is voor een deel als een **proef** te beschouwen: ook hier toont men een kenmerk aan. Echter, het onderwerp van het kenmerk, de vraagstelling, is niet nauw omschreven, maar behelst een type dat indien aanwezig, in subtypen kan worden onderscheiden. De aflezing berust niet op een éénduidige reactie, maar berust op observatie van het type (voorbeeld: bacteriën in urine; malariparasieten in erythrocyten). Het onderscheid met algemeen

onderzoek is dat hier de vraagstelling de hypothesen (de subtypen) direct impliceert.

Op basis van de **uitkomst** van één of meer proeven kan men hypothesen verwerpen (of bevestigen). De uitkomst correspondeert niet altijd met de werkelijke (TRUE) aanwezigheid van het kenmerk (gevoeligheid en specificiteit). Met behulp van Bayes' theorema kan men dan toch een uitspraak doen over de waarschijnlijkheid van een hypothese.¹¹

De cyclus van onderzoeken en proeven kan herhaaldelijk worden doorlopen, en is erop gericht dat één hypothese overblijft waarop de uiteindelijke **diagnose**, determinatie of klasse gebaseerd kan worden.

Kwaliteitsbewaking

Kwantitatieve bepalingen

Controlemonsters met bekende waarden worden geregeld meebepaald in de betreffende procedure. De gevonden waarden worden in de tijd uitgezet, vaak op grafieken met signaalniveaus bij twee en drie standaardafwijkingen. Hierdoor kan niet alleen de kwaliteit van de bepaling en de trend ervan worden beoordeeld, maar kan ook een graad eraan worden toegekend. Op deze grafieken, de zgn. Shewhart-kaarten (*figuur 1*) of afgeleiden daarvan, worden trends in de betreffende controle snel zichtbaar. Dit kan met statistische methoden worden onderbouwd. Deze of verwante grafische methoden en de bijbehorende statistische bewerkingen, zijn tegenwoordig vaak geïncorporeerd in de programmatuur van automaten. In de medische microbiologie kan dit toegepast worden bij de diffusiemethode van gevoeligheidsbepalingen.

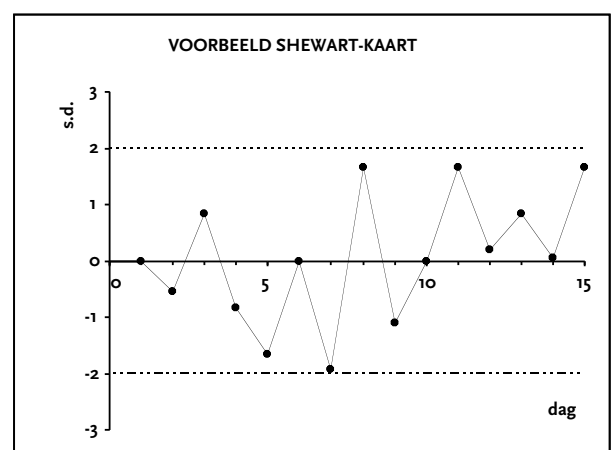
Kwalitatieve bepalingen

Het is goed gebruik om ook hiermee 'controles' mee te nemen. Deze 'controles' hebben vaak een meervoudige functie:

- als controle: voldoet het resultaat aan de eisen om de bepaling te accepteren? Meestal zijn deze eisen (de mate van kleuromslag, de agglutinatie) in een voorschrift vastgelegd;
- als standaard: ter vergelijking voor het vaststellen van de waarde in de bepaling;
- als referentie: uitgangspunt voor het afleiden van de uitkomst van de proef.

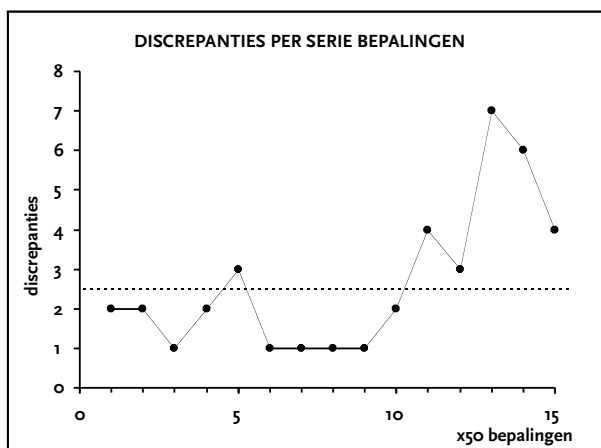
Figuur 1. Voorbeeld van een Shewhart-kaart.

Signaallijnen zijn getrokken op twee standaardafwijkingen van het gemiddelde. De laatste vijf waarden van de controle liggen aan één kant van het gemiddelde; zeven van zulke punten geven aan dat het proces niet onder controle is (naar referentie 12).



Figuur 2. Simulatie van een registratie van discrepanties.

Aanname: 50 bepalingen per serie. Tien series met 4% en 5 met 10% discrepanties. Er is een significant verschil ($p < 0,01$)¹³ ten opzichte van de signaallijn, getrokken bij de tiende percentiel van de eerste tien series.



Een geschikte 'controle' is moeilijk te kiezen. In een kwalitatieve bepaling wordt een scherpe grens verondersteld tussen wel en niet optreden van de reactie, maar het resultaat bestrijkt altijd een zeker gebied. Kiest men nu een 'controle' waarbij de reactie gemakkelijk is waar te nemen, dan zal deze een triviaal resultaat opleveren. Een 'controle' precies op de grens van de waarneembare reactie, zal even vaak – door toeval bepaald – positief als negatief worden beoordeeld en dus niet alleen als controle ongeschikt, maar ook als standaard onbruikbaar zijn. Een gebied vastleggen waarin men geen uitspraak doet, biedt beperkt soelaas: men creëert nu twee grenzen in plaats van één (negatief/indeterminate/positief).

Toch zijn er mogelijkheden tot kwantitatieve kwaliteitsbewaking van kwalitatieve bepalingen. Voor proeven die op een schaal met voldoende en goed onderscheidende graden gebaseerd zijn (bv. titraties en MRC-bepalingen) geldt in grote trekken hetzelfde als voor kwantitatieve bepalingen. In deze gevallen gebruikt men aparte standaarden en controles. Zo nodig moeten aangepaste (parameter vrije) statistische methoden worden toegepast. In andere situaties stel ik voor subjectieve controles die nu al plaatsvinden te systematiseren. Dit betreft dan bepalingen die in duplo worden uitgevoerd, of door twee of meer personen worden afgelezen (interview door collega's, supervisie door leidinggevenden). Met geautomatiseerde systemen is gemakkelijk een onafhankelijke en snelle registratie van de resultaten te verkrijgen. Discrepanties, niet alleen van controles maar vooral ook van proefmonsters, blijven beschikbaar voor directe controle. Bovendien kan men de discrepanties nu grafisch uitzetten en statistisch bewerken, waardoor problemen en trends eerder zichtbaar worden (figuur 2).

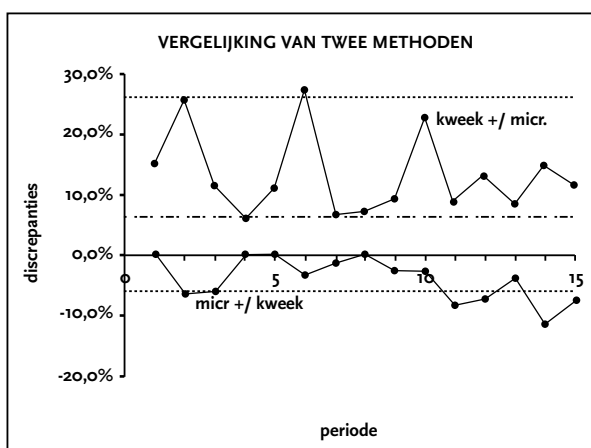
Voor een zo realistisch mogelijke simulatie is voor de figuren 2 en 3 gebruikgemaakt van aselect gekozen getallen uit een binomiaal-verdeling).

Proef

De uitkomst van proeven dient gebaseerd te zijn op gevalideerde bepalingen. De validatie van proeven zelf berust op het vaststellen van de gevoeligheid¹¹ en specificiteit¹² ervan voor het vaststellen van een hypothese. Dit vergt grondig wetenschappelijk onderzoek dat niet door elk laboratorium herhaald kan worden. De Praktijkrichtlijn¹ geeft voor analytische validatie aan: 'Bij gebruik van commercieel verkrijg-

Figuur 3. Simulatie van een vergelijking van kweek en microscopie op bacteriurie.

Aanname: gemiddeld 50 positieven per periode. Kweek ontdekt aanvankelijk gemiddeld +10% en -2% vergeleken met microscopie; de laatste vijf perioden 5% minder: +9,5% en -6,5%. Deze laatste daling toont een significant verschil ($p < 0,025$)¹³.



bare *in-vitro*-diagnostica volgens de voorschriften van de leverancier of bij gebruik van een gepubliceerde methode kan worden volstaan met een implementatie-validatie'. Dit geldt ook voor de validatie van proeven.

De kwaliteitsbewaking kan op een vergelijkbare manier worden benaderd worden als die van bepalingen. Vooral als het gaat om proeven die matig-gevoelig of specifiek zijn is het goed gebruik om een kenmerk aan te tonen door middel van ten minste twee methoden, bv. microscopie en kweek, die als elkaars controle dienen. Ook hier wordt voorgesteld om de discrepanties te registreren en te visualiseren voor een kwantitatieve kwaliteitsbewaking. De discrepante resultaten kunnen als een percentage van de positief-conforme resultaten worden uitgezet. Een simulatie laat zien dat een betrekkelijk kleine vermindering van de opbrengst (bv. met 5 procent van 20 naar 19 procent – bij een methode met een gevoeligheid van ca. 96% – figuur 3) kan worden aangetoond. Afwijkingen in een minder gevoelige methode zullen minder snel aantoonbaar zijn doordat er meer 'ruis' is.

Gericht onderzoek

Voor gericht onderzoek geldt in hoge mate hetzelfde als voor proeven. Discrepanties in de subtypering zullen een aparte behandeling behoeven. Ook hierin neemt gericht onderzoek een positie in tussen proeven en algemeen onderzoek.

Algemeen onderzoek

Goed onderzoek is gebaseerd op gevalideerde proeven. Algemeen onderzoek zelf is dermate variabel in vraagstelling, materiaal en onderzoeksprocedure en de uitkomsten onderling onvoldoende vergelijkbaar, zodat kwantitatieve kwaliteitsbewaking zelden uitvoerbaar zijn.

De kwaliteitsbewaking zal daarom meestal op individuele onderzoeken gericht zijn. Daarbij speelt de beoordeling van de innerlijke consistentie van de aanpak en van de resultaten van een onderzoek dat uit meer delen bestaat, en de correlatie ervan met informatie uit ander onderzoek, een belangrijke rol. Door hierbij meer personen te betrekken is objectiveren van de kwaliteitsbeoordeling toch goed mogelijk. Dit heeft verschillende vormen:

- *Intervisie*

Bij veel laboratoriumonderzoek zijn meer analisten betrokken, vooral als het zich over meer dagen uitstrekt. Hierdoor ontstaat vanzelf een vorm van intervisie.

- *Klinische validatie*

Het resultaat van onderzoeken moet worden beoordeeld in het licht van de vraagstelling. Dit is de verantwoordelijkheid van de laboratoriumspecialist. In eenvoudige gevallen, met verwachte (meestal negatieve) resultaten kan deze beoordeling gedelegeerd zijn naar de analist of zelfs naar de automaat, maar de laboratoriumspecialist is verantwoordelijk voor de richtlijnen ervoor. Terugkoppeling van klinisch relevante bevindingen die leiden tot aanvullend laboratoriumonderzoek of tot actie naar de aanvrager, zal bijdragen tot motivatie en continue kwaliteitsverbetering. Omgekeerd geldt dit ook voor het toekennen van de bevoegdheid aan iedere analist en in het bijzonder aan degene die autoriseert, om bijzondere bevindingen onder de aandacht van de laboratoriumspecialist te brengen.

- *Autorisatie*

Iemand (soms dezelfde als degene die valideert) loopt de hele onderzoeksprocedure na vóór vrijgeven van de uitslag (eventueel met restricties). In juridische termen is dit een marginale toetsing, d.w.z. dat niet de inhoud wordt beoordeeld maar uitsluitend of het hele systeem correct heeft gefunctioneerd, en dat men dus voor het resultaat instaat.

In sommige laboratoria wordt materiaal met bijzondere, moeilijke of klinisch interessante aspecten in werkbesprekingen ter discussie gesteld. Door objectivering zowel als nascholingsaspecten kan dit blijvend kwaliteitsbevorderend werken. Discussiemicroscopen en andere projectietechnieken kunnen dit bevorderen.

Beschouwing

In de cyclus van voortdurende kwaliteitsverbetering Plan-Do-Check-Act, de zgn. Deming-cycle, heeft de 'Check', de objectieve kwaliteitsbewaking een belangrijke rol. Kwaliteitsbewaking is begonnen met en veelal nog steeds gebaseerd op de statistische analyse van kwantiteiten. Voor kwantitatieve bepalingen ligt de wijze waarop dit gebeurt voor de hand, deze is dan ook goed uitgewerkt. De kwaliteitsbewaking van kwalitatief onderzoek is nog achtergebleven. Er bestaat een tendens om kwalitatieve bepalingen te vervangen door kwantitatieve, maar kwalitatief onderzoek zal blijven bestaan.

Controle van de kwaliteit van proeven vond altijd al plaats, bv. door duplobepalingen, intervisie, of meer dan één proefmethode, maar de beoordeling daarvan was meestal niet systematisch over grotere series. In dit artikel wordt een voorstel gedaan deze bewaking te systematiseren, door discrepanties te registreren en te kwantificeren. Met onafhankelijke dubbele aflezing en registratie van microtiterproeven ter controle van individuele proeven met behulp van automatiseringssystemen zijn in het verleden ervaringen opgedaan. Het blijkt dat dit vrijwel geen tijdverlies oplevert, vergeleken met een papieren methode, zelfs tijdwinst.

Ervaring in het visualiseren en statistisch bewerken ervan ontbreekt echter. Op grond van bovenstaande bevindingen met simulaties en oriënterend statistisch onderzoek wordt een methode voorgesteld (zie bijlage), die uitvoerbaar lijkt mits computerprogramma's hierop inspelen. Zij lijkt nauwkeuriger dan andere om de kwaliteit van kwalitatieve methoden aantoonbaar te maken. Een en ander zal echter in de

praktijk en door middel van nader statistisch onderzoek bevestigd en uitgewerkt moeten worden.

Het bepalen of aflezen in duplo kost extra middelen en mankracht, waarvan een deel overigens hiervoor nu al wordt ingezet. Welke vormen van controle men kiest en in welke frequentie – in alle gevallen, steekproefsgewijs, incidenteel, of bij de introductie van nieuwe middelen zoals substraten en kleurstoffen – zal mede bepaald worden door de ervaring van de betrokkenen met de methode, maar met kwantitatieve gegevens is deze beslissing beter te onderbouwen.

Uit het hier besprokene komen ook een aantal problemen naar voren, waarmee ook de kwaliteitsbewaking door middel van rondzendingen te maken heeft. Deze belangrijke vorm van kwaliteitsbewaking valt echter buiten het kader van dit artikel, evenals andere belangrijke kwaliteitsbepalende factoren, zoals (na)scholing en protocollen.

Conclusie

Voor de kwaliteitsbewaking van kwalitatieve bepalingen en proeven moet worden gezocht naar kwantitatieve methoden. Hiervoor wordt een methode voor het kwantificeren en visualiseren van discrepanties voorgesteld. Voor kwaliteitsbewaking van onderzoek blijft klinische validatie en autorisatie met terugkoppeling naar betrokkenen het belangrijkste.

Summary

Literature on quantitative quality control of qualitative investigations in medical laboratories is relatively scarce.

The meaning of the term qualities is discussed. The outcome (positive or negative) of a test is a quality that is derived from the result of a determination. This result may be obtained objectively or subjectively. The outcome of the test is used to test hypotheses which are formulated in an investigation. Possibilities of quality control are discussed. If qualitative readings are done in duplicate, or tests are performed by at least two methods, discrepant results should be quantified. A method is proposed for visualisation by charts and statistically testing, analogous to Shewhart charts in quantitative tests.

The quality of investigation will be controlled mainly by clinical validation and authorisation and feedback of results.

Literatuur

1. Loeber JG, Slagter S (red). Praktijkrichtlijn voor het opzetten van een kwaliteitssysteem voor Laboratoria in de Gezondheidszorg, derde druk. Coördinatie Commissie ter bevordering van de Kwaliteitsbeheersing van het Laboratoriumonderzoek op het gebied van de gezondheidszorg (CCKL) 1999.
2. ISO 15189:2003. Medical laboratories - Particular requirements for quality and competence.
3. Dijk WC van, Jongen GL, van der Meer-Overwater GM. Model Kwaliteitshandboek Medische Microbiologie. NVMM 1995.
4. Voorlopige W.C.C. standaard: Termen voor Classificaties en definities. Nationale Raad voor de Volksgezondheid 1989.
5. Veen PAF van. Etymologisch woordenboek: de herkomst van onze woorden. Van Dale Lexicografie, Utrecht Antwerpen 1990.
6. Custers EJFM, Stuyt PMJ, Vries Robbé PF de. Clinical Problem Analysis (CPA): A systematic Approach to Teaching Complex Medical Problem Solving. Academic Medicine 2000;75:67-73.
7. Vries Robbé PF de, Stuyt PMJ, Meer JWM van der. Onderwijs in Methodisch Denken in de Praktische Geneeskunde. In: Metz JCM, Scherpbier AJJA, Vleuten CPM van der (red). Medisch onderwijs in de praktijk. Assen, van Gorkum; 1995;p58-68.
8. Weed LL. Medical Records that guide and teach. N Engl J Med 1968;278:593-600.
9. Weed LL. Medical Records that guide and teach (continued). N Engl J Med 1968;278:652-7.
10. Griethuysen AJA van. Onderzoek en proef. Ned Tijdschr voor Med Microb 2004; aangeboden voor publicatie.

11. Barker DJP, Rose G. Epidemiology in medical Practice 2e ed. Churchill Livingstone 1981;p34.
12. NN. Quality Control in Clinical Chemistry. Murex Diagnostics Benelux; Utrecht.
13. Signifikanzschränken für den Vierfeldertest. in: Diem K, Lentner C (red). Documenta Geigy: Wissenschaftliche tabellen 7e ed. J.R. Geigy A.G. Basel; 1968; p.109-23.

A.J.A. van Griethuysen, Afdeling Medische Informatiekunde, Universitair Medisch Centrum St Radboud, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen, e-mail: ajavg@planet.nl, tel. (024) 3613125.

Verantwoording

De auteur is thans verbonden aan de afdeling voor medische informatiekunde van het Universitair Medisch Centrum St Radboud, te Nijmegen (hoofd: prof. dr. P.F. de Vries Robbé). Hij is namens de NVMM lid van de Beleidsadviescommissie Accreditatiezaken van de CCKL, die zich onder meer bezighoudt met het voorbereiden van een nieuwe druk van de Praktijkrichtlijn van de CCKL.

Bijlage

Voorstel voor een voorlopige werkwijze kwantitatieve weergave

De werkwijze is geschikt voor bepalingen (in duplo bepaald of afgelezen) en voor proeven volgens twee methoden.

Het totale aantal discrepanties kan worden weergegeven zoals in *figuur 2* (methode A), of met inbegrip van de 'richting' zoals in *figuur 3* (methode B). De laatste bevat meer informatie en verdient daarom waarschijnlijk de voorkeur.

Werkwijze

Bepaal in 10 series (of periodes) het aantal discrepanties. Druk ze uit in absolute aantallen, of – bij verschillend grote series – als percentage van het aantal bepalingen (A) of van het aantal positief conforme resultaten (B).

Zet deze op volgorde van serie in grafiek.

Bepaal en teken de 10^e (en de 90^e (B)) percentiel-lijnen.

Breng de discrepanties van volgende series in grafiek in overeenstemming met 2-3.

Interpretatie

Overschrijding van de percentiellijnen in drie opeenvolgende series, of in vier van ≤ 6 , of in 6 van ≤ 10 series wijst op een significante afwijking ($p < 0,05$ vierveldtoets)¹³ die nader onderzoek vraagt.

Opmerking: De optimale grootte van de serie (20-60?) en het optimale aantal series is afhankelijk van het percentage discrepanties, de gewenste detectiegevoeligheid en de praktische haalbaarheid. Dit vergt nadere statistische analyse.

Streptococcus pneumoniae: nieuwe inzichten in een 'oud' pathogeen

CHRIS NEELEMAN, MARCEL VAN DEUREN, JOHAN MOUTON

Samenvatting

Anno 2004 is *S. pneumoniae* is nog steeds een belangrijke verwekker van invasieve infecties, zoals meningitis, sepsis of septische shock, die gepaard gaan met een hoge mortaliteit. Er zijn inmiddels meer dan 90 serotypen bekend waarvan slechts een beperkt aantal in staat is invasieve infecties te veroorzaken. Het kapsel is de belangrijkste virulentiefactor. Daarnaast wordt een toenemend aantal eiwitten beschreven dat een rol speelt bij de virulentie van *S. pneumoniae*. TLR-gemedieerde cytokine-inductie en complement-activatie zijn belangrijke elementen in de vroege afweer tegen invasieve *S. pneumoniae*-infecties. De complexe interacties van de pneumokok met het innate immuunsysteem zijn nog niet geheel opgehelderd. De laatste jaren is de prevalentie van penicilline- en macrolideresistente *S. pneumoniae*-stammen wereldwijd fors toegenomen. Ook in Nederland wordt er een stijging van pneumokokkenmacrolideresistentie (MIC > 2 mg/l) gezien; van 3,8% in 1999 tot 7,4% in 2002. In dit overzicht wordt een aantal recente inzichten in de epidemiologie en de pathogenese van pneumokokkeninfecties besproken.

Trefwoorden: *Streptococcus pneumoniae*, pathogenese, pneumokokkenresistentie, virulentiefactoren

Inleiding

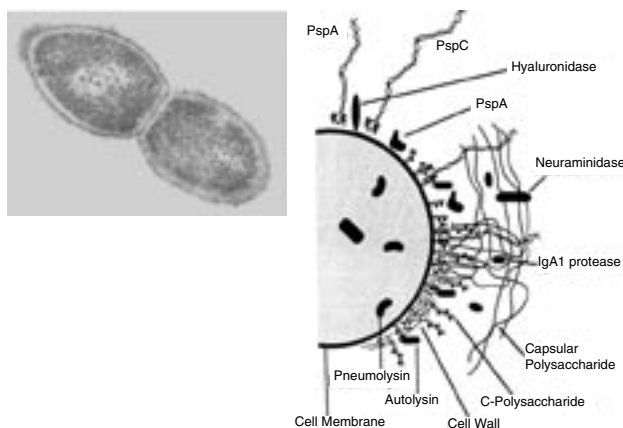
Anno 2004 hebben invasieve infecties door *Streptococcus pneumoniae*, ondanks de beschikbaarheid van effectieve antibiotica, nog steeds een hoge mortaliteit.¹ Invasieve pneumokokkeninfecties, zoals pneumonie, sepsis en meningitis, komen het meest frequent voor bij kinderen onder de twee jaar, ouderen en immuungecompromitteerde patiënten. *S. pneumoniae*, een Grampositieve bacterie die groeit als diplokok of in korte ketens, is omgeven door drie verschillende structuren: aan de buitenkant het polysaccharidekapsel, daaronder de celwand bestaande uit peptidoglycaan en vervolgens de celmembranen (figuur 1). In 1881 werd de pneumokok voor het eerst geïsoleerd door Louis Pasteur. Sindsdien is *S. pneumoniae* een van de meest intensief bestudeerde micro-organismen; dat heeft geleid tot belangrijke inzichten

in de pathogenese van bacteriële infecties (tabel 1). In dit overzicht wordt een aantal recente inzichten in de epidemiologie en de pathogenese van pneumokokkeninfecties besproken.

Epidemiologie

Er zijn, op basis van antigenen verschillen van het polysaccharidekapsel, momenteel meer dan 90 verschillende serotypen van de pneumokok geïdentificeerd.² De virulentie van de verschillende serotypen wisselt sterk; slechts een beperkt aantal is in staat invasieve infecties te veroorzaken.² Ook binnen eenzelfde kapseltype kan de virulentie wisselen en de laatste jaren wordt er een toenemend aantal niet-kapselgerelateerde virulentiefactoren van *S. pneumoniae* beschreven.³⁻⁴ Kolonisatie van de nasopharynx door *S. pneumoniae* is essentieel voor het ontwikkelen van een infectie. De kolonisatiegraad varieert met de leeftijd. Bogaert et al. beschrijven onder gezonde Nederlandse kinderen van 1-19 jaar een piekincidentie 55 procent op de leeftijd van drie jaar met een geleidelijke daling tot 8 procent rond het tiende jaar.⁵ Virale luchtweginfecties bevorderen de kolonisatie, waarschijnlijk doordat virale neuraminidases de adherentie van *S. pneumoniae* bevorderen.⁶ Daarnaast onderscheiden de verschillende serotypen zich in invasieve eigenschappen.⁷ Met een significante afname van *Haemophilus influenzae*-type B-infecties door effectieve vaccinatie is *S. pneumoniae* de meest frequente verwekker geworden van bacteriële infecties onder de leeftijd van vijf jaar en de meest frequente veroorzaker van bacteriële meningitis onder de leeftijd van twee jaar.⁸ Ondanks belangrijke vooruitgang in de intensive-care-geneeskunde blijft de sterfte van pneumokokkenmeningitis ook in Nederland hoog (rond 20 procent).⁹ Informatie over andere invasieve pneumokokkeninfecties in Nederland is onvolledig omdat, in tegenstelling tot voor

Figuur 1. A. Elektronenmicroscopische opname van *S. pneumoniae*. B. Schema van *S. pneumoniae* (naar Briles et al.4).



Tabel 1. Historische mijlpalen in het onderzoek naar *S. pneumoniae*.

1881: Louis Pasteur isoleert en kweekt de bacterie voor het eerst;
1880s: <i>S. pneumoniae</i> blijkt een belangrijke verwekker van pneumonie;
1884: Gram ontwikkelt een kleuringstechniek waarmee een pneumokokkenpneumonie kan worden onderscheiden van andere oorzaken van pneumonie;
1902: Neufeld observeert kapselzwellung (quellung) met typespecifiek antiserum, een ontdekking die leidt tot serotypering van isolaten;
1904: Neufeld en Rimpau observeren opsonisatie van pneumokokken;
1913: Lister toont de ontwikkeling van typespecifieke antilichamen aan;
1930: Francis laat zien dat kapselpolysaccharide immunogeen is bij mensen;

bacteriële meningitis, hiervoor geen centrale registratie bestaat. Op de kinder-intensive care van het Universitair Medisch Centrum St Radboud te Nijmegen werden over de laatste 15 jaar de gegevens van alle 36 kinderen met invasieve pneumokokkeninfecties (liquor- of bloedkweek positief) geanalyseerd (tabel 2). De meeste infecties traden op onder de leeftijd van twee jaar (67 procent) en vrijwel allemaal onder de leeftijd van vijf jaar (89 procent). De sterfte bedroeg 44 procent en bij 30 procent van de meningitispatiëntjes traden ernstige neurologische restverschijnselen op. De helft van de kinderen had een onderliggende aandoening, zoals asplenie, hyposplenie, sikkelcelanemie, maligniteit of recente neurochirurgie. Alle patiënten met een asplenie of een hyposplenie (n = 4) hadden een foudroyante septische shock met purpura fulminans en vertoonden een snel fataal beloop (overlijden < 20 uur na opname). Twee patiënten presenteerden zich met het zeldzame beeld van pneumokokkengerelateerd hemolytisch uremisch syndroom (HUS). De gevonden hoge mortaliteit en morbiditeit van pneumokokkeninfecties in onze intensive-carepopulatie is in overeenstemming met de resultaten van andere studies.^{10,11} Het ernstige beloop van invasieve pneumokokkeninfecties onderstreept het belang van effectieve preventie bij risicogroepen door middel van vaccinatie en chemoprophylaxe.

Pathogenese

Kolonisatie van de nasopharynx is de eerste stap in de pathogenese van pneumokokkeninfecties. Adherentie vindt plaats door binding van oppervlakte-eiwitten, zoals *pneumococcal surface adhesin A* (PsaA), aan koolhydraten (N-acetyl-glycosamine) op het oppervlak van de epitheelcel. De koloniemorfologie van de pneumokok, opaque of transparant, is in belangrijke mate van invloed op de adherentie. Alleen de transparantfase-variant, met meer cholinebindende proteïnen A (CbpA) en minder kapsel dan de opaque variant, is in staat de nasofarynx te koloniseren.¹² Bij invasie van de pneumokok spelen interactie van cholinebindende proteïnen (Cbp) van

de pneumokok met sialzuur, de *platelet-activating-factor receptor* (PAFr) en de polymere Ig-receptor (pIg) van cytokinegeactiveerde epitheelcellen een rol.¹³ Invasie van pneumokokken naar de bloedbaan kan leiden tot ernstige systemische infecties, zoals sepsis of septische shock, of gelokaliseerde infecties, zoals meningitis. Recent is door Van Ginkel et al. in een muizenmodel aangetoond dat pneumokokkenmeningitis zich echter ook zonder voorafgaande bacteriëmie kan ontwikkelen door retrograad axonaal transport langs de nervus olfactorius.¹⁴ Bij het ontwikkelen van meningitis na pneumokokkenbacteriëmie speelt fenotypische fasevariatie waarschijnlijk een rol. De opaque variant overleeft, door een dik polysaccharidekapsel, beter in de bloedbaan, terwijl de transparante variant beter is toegerust voor adherentie en invasie van het endotheel van de bloed-hersensbarrière.¹⁵

Virulentiefactoren van *S. pneumoniae*

Het polysaccharide kapsel van de pneumokok wordt beschouwd als een belangrijke virulentiefactor. Het voorkomt efficiënte fagocytose door het verhinderen van interactie van onderliggende celwandstructuren met het immuunsysteem en stelt de bacterie in staat in de bloedbaan te overleven.¹⁶ Bij het induceren van een ontstekingsreactie speelt het kapselpolysaccharide nauwelijks een rol.¹⁷ Mogelijk is het kapselpolysaccharide in staat cytokine-inductie door de pneumokok te remmen. Vanuit immunologisch gezichtspunt is het kapsel van belang voor de inductie van beschermende antikapselantilichamen.

De pneumokokkencelwand bestaat voornamelijk uit peptidoglycaan en induceert, in tegenstelling tot het polysaccharidekapsel, een sterke ontstekingsreactie vergelijkbaar met het endotoxine van Gram-negatieve bacteriën. Celwand en celwandcomponenten, zoals lipoteichoïnezuur, induceren de productie van pro-inflammatoire cytokines en geven een directe complementactivatie via de *mannose-binding lec-*

Tabel 2. Leeftijdverdeling, diagnose en mortaliteit bij 36 patiënten met invasieve pneumokokkeninfecties op de kinder-IC van het UMC St Radboud.

DIAGNOSE N = 36	AANTAL (%)	< 2 JAAR	> 2 JAAR	MORTALITEIT
Septische shock	5 (14)	3	2	5
Septische shock + meningitis	12 (33)	9	3	7
Meningitis	15 (42)	9	6	2
Pneumonie	4 (11)	3	1	2
Totaal (%)	36 (100)	24 (67)	12 (33)	16 (44)

tin (MBL)- en de alternatieve complementroute.¹⁸ Complementactivatie en cytokine-inductie leiden tot een hevige ontsteking op de plaats van de infectie.

Virulentie eiwitten. Op het oppervlak van de pneumokok en in het cytoplasma bevindt zich een aantal eiwitten die mogelijk een rol spelen in de pathogenese. De laatste jaren is van een toenemend aantal van deze eiwitten aangetoond dat ze betrokken zijn bij de virulentie van *S. pneumoniae*.

Pneumococcal surface proteïne A (PspA), een choline-bindend eiwit, gebonden aan het fosforylcholine van de bacteriële celwand, is aanwezig op alle klinische pneumokokkenisolaten en speelt een belangrijke rol in de virulentie. PspA-negatieve mutanten zijn duidelijk minder virulent *in vivo* en immunisatie met PspA geeft bescherming tegen invasieve pneumokokkeninfecties.¹⁹ Hoewel het exacte werkingsmechanisme niet is opgehelderd, is recent aangetoond dat PspA complementactivatie remt, mogelijk door belemmering van C3b-depositie op de pneumokok, hetgeen leidt tot een verminderde fagocytose door macrofagen.²⁰

Choline-binding proteïne A (CbpA) is qua structuur gerelateerd aan PspA en functioneert als adhesiemolecuul en als virulentiefactor.²¹ CbpA bindt aan sialzuur en speelt een rol bij invasie van de mucosa door binding aan de pIg-receptor van cytokine-geactiveerde epiteelcellen.²² CbpA bindt ook specifiek aan secretair IgA en remt daarmee mogelijk de mucosale klaring van *S. pneumoniae*. Het wordt daarom ook wel aangeduid als SpsA, *secretory immunoglobulin A binding proteïne*.²³ Daarnaast speelt CbpA een rol bij de binding van factor H (fH), een regulerend eiwit van de alternatieve complementroute.²⁴ Immunisatie met CbpA geeft, net als PspA, in het dierenmodel bescherming tegen verschillende *S. pneumoniae*-serotypen.²⁵

Pneumococcal surface adhesine A (PsaA), ook een choline-bindend eiwit, is betrokken bij adherentie aan nasofaryngeale cellen. Anti-PsaA-antilichamen beschermen tegen pneumonie en sepsis bij muizen. Daarnaast lijkt PsaA een rol te spelen bij penicillinetolerantie van pneumokokken.²⁶

Pneumolysine is een intracellulair toxine dat vrijkomt na autolyse van de pneumokok. Het is aanwezig in vrijwel alle klinische *S. pneumoniae*-isolaten en heeft verschillende functies die bijdragen aan de virulentie.²⁷ Naast cytolytische en cytotoxische eigenschappen remt pneumolysine de trilhaarfunctie en vermindert het de mucociliaire eliminatie van bacteriën. Pneumolysine is in staat de alternatieve complementroute te activeren en cytokineproductie te induceren.

Autolysine (N-acetylmuramyl-L-alanine amidase; LytA) is een cholinebindend eiwit en is verantwoordelijk voor autolyse van de bacteriële celwand.²⁸ Hierbij komen verschillende enzymen vrij, zoals pneumolysine, neuraminidase en hyaluronidase, die bijdragen aan de virulentie van de pneumokok.²⁹ Verder ontstaan na lysis van de celwand afbraakproducten, zoals peptidoglycaan en teichoïnezuur, beide krachtige inductoren van een ontstekingsreactie.³⁰

Neuraminidase speelt een rol bij adherentie en kolonisatie, onder meer door het verminderen van de viscositeit van de mucus en het vrijmaken van receptoren op het luchtwegepitheel.³¹ Bij het *S. pneumoniae*-gerelateerde hemolytisch uremisch syndroom (HUS) speelt neuraminidase waarschijnlijk een belangrijke rol door het klieven van N-acetylneuraminezuur op het oppervlak van rode bloedcellen en endotheelcellen waardoor het T-antigeen blootgesteld wordt aan interactie met specifieke IgM-antilichamen. Hierop treedt hemolyse, endotheelbeschadiging en trombo-

tische microangiopathie op resulterend in het klinische beeld van HUS.³²

Hyaluronidase bevindt zich, evenals neuraminidase, aan het oppervlak van *S. pneumoniae* en draagt bij aan de invasieve eigenschappen door het afbreken van hyaluronzuur, een belangrijke component van bindweefsel en de extracellulaire matrix.³³ Verder speelt hyaluronidase mogelijk een rol bij het ontstaan van pneumokokkenmeningitis.³⁴

Innate immuunrespons. De innate immuunrespons is cruciaal in de vroege afweer tegen invasieve *S. pneumoniae*-infecties. Wanneer pneumokokken deze eerste afweer omzeilen kunnen ernstige invasieve infecties, zoals meningitis, sepsis en septische shock, ontwikkelen. Terwijl het innate immuunsysteem geactiveerd wordt binnen minuten en verantwoordelijk is voor de afweer gedurende de eerste uren en dagen van de infectie, heeft het adaptieve immuunsysteem drie tot zeven dagen nodig voordat een adequate respons met specifieke antistoffen, noodzakelijk voor efficiënte fagocytose, totstandkomt. Bij de innate immuunrespons spelen zowel complementactivatie als de productie van pro-inflammatoire cytokines een belangrijke rol.³⁵

Complement. Activatie van complement door *S. pneumoniae* verloopt via verschillende systemen. In de vroege fase speelt activatie van de MBL-route en de alternatieve route celwandcomponenten een rol, terwijl later de CRP- en antigeen-antilichaamgemedieerde klassieke routeactivatie van belang wordt.³⁶ Behalve het polysaccharidekapsel, dat celwandstructuren afschermt, kunnen ook oppervlakte-eiwitten interfereren met complementactivatie en bijdragen tot een verminderde fagocytose door macrofagen en een verhoogde pathogeniciteit van de pneumokok.³⁷

Cytokines. Naast complement zijn pro-inflammatoire cytokines van belang in de vroege afweer tegen pneumokokkeninfecties.³⁵ Tumornecrosefactor- α (TNF α) en interleukine-1 β (IL-1 β) induceren, in synergie, een cascade van ontstekingsmediatoren, zoals andere cytokines, chemokines en arachidonzuurmetabolieten.³⁸ In een muizenmodel bleken zowel TNF α als IL-1 β van belang voor een effectieve innate respons.³⁹ Afwezigheid van TNF α of zijn receptoren resulteert in een verhoogde gevoeligheid voor invasieve pneumokokkeninfecties.⁴⁰ Verschillende celwandcomponenten van de pneumokok, zoals peptidoglycaan en lipoteichoïnezuur induceren cytokineproductie in monocyten en macrofagen *in vitro*.⁴¹ Hoewel lokale productie van pro-inflammatoire cytokines van belang lijkt voor effectieve klaring van pneumokokken, is het duidelijk dat excessieve gegeneraliseerde productie van deze cytokines leidt tot schadelijke effecten, zoals sepsis of septische shock.

Toll-like-receptoren (TLR). Met de ontdekking van de *toll-like*-receptoren (TLR) is een belangrijke familie van transmembraanreceptoren van het innate immuunsysteem geïdentificeerd.⁴² TLR-receptoren zijn primaire sensoren van specifieke pathogeen-geassocieerde moleculaire patronen (*pathogen-associated molecular patterns* ofwel PAMPs).⁴³ Voor *S. pneumoniae* wordt TLR2 beschouwd als de belangrijkste transmembraanreceptor die in staat is, in samenwerking met CD14, zowel complete gekapselde pneumokokken als celwandcomponenten, zoals peptidoglycaan en lipoteichoïnezuur, te herkennen.⁴⁴ Recent is aangetoond dat bij het signaleren van *S. pneumoniae* behalve TLR2 en CD14, ook TLR1 en TLR4 betrokken zijn.^{45,46} De exacte moleculaire interactie van *S. pneumoniae* met de TLR-IL-1-receptorfamilie is complex en is nog niet volledig opgehelderd. TLR-gemedieerde

signaaltransductie induceert een intracellulaire cascade die leidt tot activatie van *nuclear factor .B* (NF- κ B) en productie van pro-inflammatoire cytokines.⁴⁷ Naast activatie van het innate immuunsysteem, spelen TLR-receptoren een belangrijke rol in de interactie met het adaptieve immuunsysteem, door het induceren van rijping van dendritische cellen en het aansturen van de T-helpercellerespons.⁴⁸

Resistentie

De prevalentie van penicilline- en macrolideresistente *S. pneumoniae*-stammen is wereldwijd de laatste jaren fors toegenomen; in Spanje en Hongarije zijn reeds meer dan 50 procent van de pneumokokken resistent of verminderd gevoelig voor penicilline en meer dan 30 procent resistent tegen macroliden.⁴⁹ Ook in Nederland is macrolideresistentie (MIC > 2 mg/l) toegenomen; van 3,8 procent in 1999 tot 7,4 procent in 2002.^{50, 51} Hierbij speelt waarschijnlijk het toeneemende gebruik van macroliden een rol.⁵¹ Penicillineresistentie (MIC > 1 mg/l) is nog steeds laag (rond 1 procent) in Nederland, maar intermediaire resistentie (0,06mg/l < MIC \leq 1mg/l) laat een stijging zien van < 1 procent in 1999 tot 3,4 procent in 2002; een meer dan drievoudige toename van niet-gevoelige stammen.⁹ Erytromycine- en penicillineresistentie onder pneumokokken zijn sterk met elkaar gecorreleerd; in 2002 waren bijna de helft van de penicilline-I/R-stammen macrolideresistent en 25 procent van de macrolideresistente stammen verminderd gevoelig voor penicilline.⁵⁰

Macrolideresistentie bij pneumokokken wordt voornamelijk veroorzaakt door twee mechanismen, methylering van de macrolidebindingsplaats op het ribosoom en actieve macrolide efflux, gemedieerd door respectievelijk *erm*-genen (erythromycin ribosome methylation) genen en *mef*-genen (macrolide efflux).⁵²⁻⁵³ Het *erm*(B)-gen methyleert een specifiek adenineresidu in 23S rRNA, waarmee de binding van macrolide, lincosamine en streptogramine-B-antibiotica geblokkeerd wordt (MLS_B fenotype). Het *mef*-gen codeert voor een macrolide effluxpomp, die alleen resistentie tegen de groep van 14- en 15-rings macroliden geeft (M-fenotype). Het *erm*(B)-gen is meestal gerelateerd aan hoge resistentie (MIC \geq 256 mg/l) terwijl *mef*-gemedieerde resistentie meestal laag tot gemiddeld is (MIC 2-32 mg/l).⁵⁴ Recent zijn twee nieuwe mechanismen bij klinische pneumokokkenisolaten beschreven; mutaties in 23S rRNA en veranderingen in ribosomale eiwitten L4 en L22.⁵⁵

Pneumokokkenresistentie is vaak klonaal bepaald. In Europa, Azië en Amerika komen drie penicillineresistente klonen, 23F, 9/14 en 6B het meeste voor en recent werd een macrolideresistente kloon (STg) beschreven in Schotland, Engeland, België en Australië.⁵⁶ De laatste jaren wordt steeds vaker falen van de standaard antimicrobiële therapie beschreven als gevolg van resistentie van *S. pneumoniae*.^{57, 58} Het is dan ook van belang de epidemiologische verspreiding van resistente pneumokokkenstammen nauwgezet te monitoren.

Samenvattend blijft *S. pneumoniae* een belangrijk pathogeen waarvan de exacte moleculaire mechanismen waardoor de bacterie invasief wordt, de afweermechanismen van de gastheer omzeilt en ontsteking induceert, nog niet geheel zijn opgehelderd. Beter inzicht in deze complexe interacties zou kunnen bijdragen aan het ontwikkelen van nieuwe therapeutische en preventieve strategieën. Daarnaast is de toene-

mende resistentie van *S. pneumoniae* een bron van zorg. Omdat kolonisatie van de nasofarynx met resistente pneumokokken mogelijk een rol speelt bij de verspreiding van deze stammen kunnen, naast een restrictief antibioticabeleid, nieuwe vaccinatiemethoden met virulentie-eiwitten, zoals PspA en PspC, in de toekomst van belang zijn.

Summary

S. pneumoniae remains an important pathogen causing serious invasive infections, like meningitis, sepsis or septic shock, that are correlated with a high mortality. Among the more than 90 known serotypes only a limited number is able to cause invasive infections. Although the polysaccharide capsule is the most important virulence factor, an increasing number of proteins have been demonstrated to play a role in the pathogenicity of *S. pneumoniae*. TLR mediated cytokine induction and complement activation are important elements in the innate immune response to invasive *S. pneumoniae* infections. The complex interactions of *S. pneumoniae* with the innate immune system are only beginning to be elucidated. During the last decades there has been a substantial increase in penicillin- and macrolide-resistant pneumococcal strains worldwide. Also in The Netherlands an increase of pneumococcal macrolide resistance (MIC > 2 mg/L) is observed; from 3.8% in 1999 to 7.4% in 2002. In this concise review new insights in the pathogenesis and epidemiology of pneumococcal infections will be discussed.

Referenties

1. Konradsen HB, Kalso MS. Invasive pneumococcal infections in Denmark from 1995 to 1999: epidemiology, serotypes, and resistance. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002;9:358-65.
2. Kalin M. Pneumococcal serotypes and their clinical relevance. *Thorax* 1998;53:159-62.
3. Wellmer A, Zysk G, Gerber J, et al. Decreased virulence of a pneumolysin-deficient strain of *Streptococcus pneumoniae* in murine meningitis. *Infect Immun* 2002;70:6504-8.
4. Briles DE, Hollingshead SK, Swiatlo E, et al. PspA and PspC: their potential for use as pneumococcal vaccines. *Microb Drug Resist* 1997;3:401-8.
5. Bogaert D, De Groot R, Hermans PW. *Streptococcus pneumoniae* colonisation: the key to pneumococcal disease. *Lancet Infect Dis* 2004;4:144-54.
6. McCullers JA, Tuomanen EI. Molecular pathogenesis of pneumococcal pneumonia. *Front Biosci* 2001;6:D877-89.
7. Brueggemann AB, Griffiths DT, Meats E, Peto T, Crook DW, Spratt BG. Clonal relationships between invasive and carriage *Streptococcus pneumoniae* and serotype- and clone-specific differences in invasive disease potential. *J Infect Dis* 2003;187:1424-32.
8. Dawson KG, Emerson JC, Burns JL. Fifteen years of experience with bacterial meningitis. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:816-22.
9. Spanjaard L, van der Ende A, Rumke H, Dankert J, van Alphen L. Epidemiology of meningitis and bacteraemia due to *Streptococcus pneumoniae* in The Netherlands. *Acta Paediatr Suppl* 2000;89:22-6.
10. Landreau L, Moulairé V, Tarodo P, Jonquet O. [Pneumococcal infections in intensive care. Retrospective 8 year study]. *Presse Med* 1999;28:1505-8.
11. Totapally BR, Walsh WT. Pneumococcal bacteremia in childhood: a 6-year experience in a community hospital. *Chest* 1998;113:1207-14.
12. Cundell DR, Weiser JN, Shen J, Young A, Tuomanen EI. Relationship between colonial morphology and adherence of *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun* 1995;63:757-61.
13. McCullers JA, Rehg JE. Lethal synergism between influenza virus and *Streptococcus pneumoniae*: characterization of a mouse model and the role of platelet-activating factor receptor. *J Infect Dis* 2002;186:341-50.
14. van Ginkel FW, McGhee JR, Watt JM, Campos-Torres A, Parish LA, Briles DE. Pneumococcal carriage results in ganglioside-mediated olfactory tissue infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:14363-7.
15. Overweg K, Pericone CD, Verhoef GG, et al. Differential protein expression in phenotypic variants of *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun* 2000;68:4604-10.
16. Gray BM. Pneumococcal microbiology and immunity. *Pediatr Ann* 2002;31:233-40.
17. Jagger MP, Huo Z, Riches PG. Inflammatory cytokine (interleukin 6 and tumour necrosis factor alpha) release in a human whole blood system in response to *Streptococcus pneumoniae* serotype 14 and its capsular polysaccharide. *Clin Exp Immunol* 2002;130:467-74.
18. Neth O, Jack DL, Dodds AW, Holzel H, Klein NJ, Turner MW. Mannose-binding

- lectin binds to a range of clinically relevant microorganisms and promotes complement deposition. *Infect Immun* 2000;68:688-93.
19. McDaniel LS, Loechel F, Benedict C, et al. Immunization with a plasmid expressing pneumococcal surface protein A (PspA) can elicit protection against fatal infection with *Streptococcus pneumoniae*. *Gene Ther* 1997;4:375-7.
 20. Tu AH, Fulgham RL, McCrory MA, Briles DE, Szalai AJ. Pneumococcal surface protein A inhibits complement activation by *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun* 1999;67:4720-4.
 21. Ogunniyi AD, Woodrow MC, Poolman JT, Paton JC. Protection against *Streptococcus pneumoniae* elicited by immunization with pneumolysin and CbpA. *Infect Immun* 2001;69:5997-6003.
 22. Zhang JR, Mostov KE, Lamm ME, et al. The polymeric immunoglobulin receptor translocates pneumococci across human nasopharyngeal epithelial cells. *Cell* 2000;102:827-37.
 23. Hammerschmidt S, Tillig MP, Wolff S, Vaerman JP, Chhatwal GS. Species-specific binding of human secretory component to SpsA protein of *Streptococcus pneumoniae* via a hexapeptide motif. *Mol Microbiol* 2000;36:726-36.
 24. Duthy TG, Ormsby RJ, Giannakis E, et al. The human complement regulator factor H binds pneumococcal surface protein PspC via short consensus repeats 13 to 15. *Infect Immun* 2002;70:5604-11.
 25. Briles DE, Ades E, Paton JC, et al. Intranasal immunization of mice with a mixture of the pneumococcal proteins PsaA and PspA is highly protective against nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun* 2000;68:796-800.
 26. Novak R, Braun JS, Charpentier E, Tuomanen E. Penicillin tolerance genes of *Streptococcus pneumoniae*: the ABC-type manganese permease complex Psa. *Mol Microbiol* 1998;29:1285-96.
 27. Paton JC. The contribution of pneumolysin to the pathogenicity of *Streptococcus pneumoniae*. *Trends Microbiol* 1996;4:103-6.
 28. Mitchell TJ. Virulence factors and the pathogenesis of disease caused by *Streptococcus pneumoniae*. *Res Microbiol* 2000;151:413-9.
 29. Gillespie SH, Balakrishnan I. Pathogenesis of pneumococcal infection. *J Med Microbiol* 2000;49:1057-67.
 30. Tuomanen EI, Austrian R, Masure HR. Pathogenesis of pneumococcal infection. *N Engl J Med* 1995;332:1280-4.
 31. Tong HH, Blue LE, James MA, DeMaria TF. Evaluation of the virulence of a *Streptococcus pneumoniae* neuraminidase-deficient mutant in nasopharyngeal colonization and development of otitis media in the chinchilla model. *Infect Immun* 2000;68:921-4.
 32. Crookston KP, Reiner AP, Cooper LJ, Sacher RA, Blajchman MA, Heddle NM. RBC T activation and hemolysis: implications for pediatric transfusion management. *Transfusion* 2000; 40:801-12.
 33. Jedrzejewski MJ. Pneumococcal virulence factors: structure and function. *Microbiol Mol Biol Rev* 2001;65:187-207.
 34. Berry AM, Paton JC. Additive attenuation of virulence of *Streptococcus pneumoniae* by mutation of the genes encoding pneumolysin and other putative pneumococcal virulence proteins. *Infect Immun* 2000;68:133-40.
 35. Kerr AR, Irvine JJ, Search JJ, et al. Role of inflammatory mediators in resistance and susceptibility to pneumococcal infection. *Infect Immun* 2002;70:1547-57.
 36. Xu Y, Ma M, Ippolito GC, Schroeder HW, Jr., Carroll MC, Volanakis JE. Complement activation in factor D-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:14577-82.
 37. Jarva H, Jokiranta TS, Würzner R, Meri S. Complement resistance mechanisms of streptococci. *Mol Immunol* 2003;40:95-107.
 38. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest* 2000;118:503-8.
 39. Rijnveld AW, Florquin S, Branger J, Speelman P, Van Deventer SJ, van der Poll T. TNF-alpha compensates for the impaired host defense of IL-1 type I receptor-deficient mice during pneumococcal pneumonia. *J Immunol* 2001;167:5240-6.
 40. O'Brien DP, Briles DE, Szalai AJ, Tu AH, Sanz I, Nahm MH. Tumor necrosis factor alpha receptor I is important for survival from *Streptococcus pneumoniae* infections. *Infect Immun* 1999;67:595-601.
 41. Cleveland MG, Gorham JD, Murphy TL, Tuomanen E, Murphy KM. Lipoteichoic acid preparations of gram-positive bacteria induce interleukin-12 through a CD14-dependent pathway. *Infect Immun* 1996;64:1906-12.
 42. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA, Jr. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 1997;388:394-7.
 43. Takeuchi O, Hoshino K, Kawai T, et al. Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity* 1999;11:443-51.
 44. Koedel U, Angele B, Rupprecht T, et al. Toll-like receptor 2 participates in mediation of immune response in experimental pneumococcal meningitis. *J Immunol* 2003;170:438-44.
 45. Han SH, Kim JH, Martin M, Michalek SM, Nahm MH. Pneumococcal lipoteichoic acid (LTA) is not as potent as staphylococcal LTA in stimulating Toll-like receptor 2. *Infect Immun* 2003;71:5541-8.
 46. Malley R, Henneke P, Morse SC, et al. Recognition of pneumolysin by Toll-like receptor 4 confers resistance to pneumococcal infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:1966-71.
 47. Fitzgerald KA, Rowe DC, Barnes BJ, et al. LPS-TLR4 signaling to IRF-3/7 and NF-kappaB involves the toll adapters TRAM and TRIF. *J Exp Med* 2003;198:1043-55.
 48. Werling D, Jungi TW. TOLL-like receptors linking innate and adaptive immune response. *Vet Immunol Immunopathol* 2003;91:1-12.
 49. Marchese A, Schito GC. Resistance patterns of lower respiratory tract pathogens in Europe. *Int J Antimicrob Agents* 2000;16 Suppl 1:S25-9.
 50. Neeleman CjdVCKJM. The Duel 2 study: A Multicentre in Vitro Evaluation of *S. pneumoniae* Resistance in The Netherlands., *Intersc Conf Antimicrob Agents Chemother*, 2002.
 51. de Neeling AJ, Overbeek BP, Horrevorts AM, Ligtoet EE, Goetsch WG. Antibiotic use and resistance of *Streptococcus pneumoniae* in The Netherlands during the period 1994-1999. *J Antimicrob Chemother* 2001;48:441-4.
 52. Tait-Kamradt A, Clancy J, Cronan M, et al. mfeE is necessary for the erythromycin-resistant M phenotype in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:2251-5.
 53. Weisblum B. Erythromycin resistance by ribosome modification. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:577-85.
 54. Sutcliffe J, Tait-Kamradt A, Wondrack L. *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* resistant to macrolides but sensitive to clindamycin: a common resistance pattern mediated by an efflux system. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:1817-24.
 55. Tait-Kamradt A, Davies T, Appelbaum PC, et al. Two new mechanisms of macrolide resistance in clinical strains of *Streptococcus pneumoniae* from Eastern Europe and North America. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:3395-401.
 56. Amezcaga MR, Carter PE, Cash P, McKenzie H. Molecular epidemiology of erythromycin resistance in *Streptococcus pneumoniae* isolates from blood and noninvasive sites. *J Clin Microbiol* 2002;40:3313-8.
 57. Nuermberger E, Bishai WR. The clinical significance of macrolide-resistant *Streptococcus pneumoniae*: it's all relative. *Clin Infect Dis* 2004;38:99-103.
 58. Lonks JR. What Is the Clinical Impact of Macrolide Resistance? *Curr Infect Dis Rep* 2004;6:7-12.

Chris Neeleman¹, Marcel van Deuren², Johan Mouton³

Afdeling Intensive Care¹ en Interne Geneeskunde², UMC St Radboud, Nijmegen,

Afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten, Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, Nijmegen³.

Correspondentieadres:

C. Neeleman, Afd. Intensive Care, UMC St Radboud, Postbus 9101, 5600 HB Nijmegen, tel: 024-3617273, Fax: 024-3541612, e-mail: c.neeleman@ic.umcn.nl.

Paarse verkleuring van een urinezak

M. VAN LIESHOUT, B.M.W. DIEDEREN

Casus

Een 81-jarige vrouw, bekend met een recent gediagnosticeerd maagcarcinoom, werd opgenomen op de afdeling interne geneeskunde in verband met pijnklachten in de nek. Haar voorgeschiedenis vermeldde verder een abcederende salpingitis met secundair een geperforeerde diverticulitis, waarvoor resectie werd uitgevoerd en een colostoma werd aangelegd. Na aanvullend onderzoek bleek er sprake te zijn van ossale metastasen ter hoogte van de dens, waarvoor patiënte bestraald werd en een nekraag kreeg aangemeten. Vanwege haar immobiliteit werd een urinekatheter ingebracht. Na acht weken trad plotseling een paarse verkleuring van de urinezak op. Dit was de eerste keer tijdens de gehele opname-duur dat deze verkleuring optrad. Ook na vervanging van de urinezak trad opnieuw een paarse verkleuring op. Opge-merkt dient te worden dat bij vervanging van de urinekatheter heldere urine vrijkwam en de urinezak pas later paars verkleurde. Deze paarse verkleuring werd intenser naarmate de urine langer in de urinezak aanwezig was, en kon niet worden verklaard door het gebruik van medicamenten of pigmenthoudende voedingsmiddelen die patiënte gebruikte. Behalve constipatie bij morfingeb gebruik leek patiënte geen relevante klachten te hebben. Urineanalyse liet het volgende zien (referentiewaarden): een pH van 8,5 (4,8-7,8), een negatieve nitriettest, erytrocyten 80/μl (0-10/μl) en leukocyten 70/μl (0-25/μl). Bij herhaling werd een *Enterococcus faecalis* met een telling groter dan 10⁵ kolonievormende eenheden per ml uit haar urine gekweekt. Patiënte had geen mictieklachten of koorts en werd dan ook niet antibiotisch behandeld. Patiënte overleed een aantal dagen later voordat verdere analyse kon worden ingezet.

Bespreking

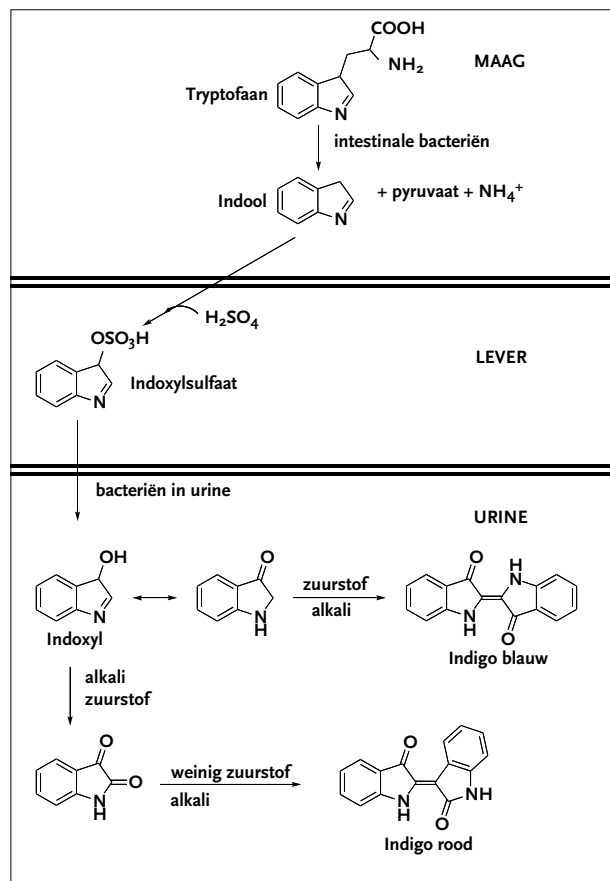
Deze spectaculaire verkleuring van de urine wordt uitsluitend gemeld bij patiënten met een verblijfskatheter en wordt het 'paarse-urinezak-syndroom' (purple urine bag syndrome) genoemd. Het beeld werd voor het eerst beschreven in 1978,¹ maar kwam waarschijnlijk al ver voor dit jaartal voor. Sir Henry Halford beschreef in de 19^e eeuw de 'blauwachtige' urine van koning George III (1738-1820). In zijn journaal schreef hij op 6 januari 1811: "De urine heeft een donkerblauwachtige kleur en laat een bleke blauwe ring achter nabij het oppervlak van de urine".²

De etiologie van het paarse-urinezak-syndroom is controversieel (figuur 1). Verondersteld wordt dat tryptofaan, afkomstig uit de voeding, door normale intestinale bacteriën wordt gemetaboliseerd tot indol voordat absorptie heeft plaatsgevonden. Dit treedt onder andere op bij mensen met bacteriële overgroei en constipatie. In de normale gastro-intestinale flora komen species voor die het enzym(complex) tryptophanase bezitten, dat de splitsing van tryptofaan in indol, pyruvaat en ammoniak katalyseert. Indol wordt vervolgens opgenomen in het bloed en in de lever omgezet tot indoxylsulfaat. Het kleurloze en wateroplosbare indoxylsulfaat wordt in de urine uitgescheiden. Indien bacteriën die

het enzym indoxylsulfatase bezitten, in voldoende mate aanwezig zijn kan het indoxylsulfaat worden omgezet in indoxyl. Indoxyl wordt vervolgens omgezet in indigoblauw en indigorood (indirubine). Een alkalisch milieu werkt als katalysator in de omzetting van indoxyl tot indigo en een verlaagde zuurstofspanning in de omgeving bevordert de omzetting tot indirubine.³ Beide pigmenten lijken (zoals uit de figuur blijkt) chemisch erg op elkaar en verschillen eigenlijk alleen door de plaats van de ketogroep en de externe alkeengroep van één van de twee indolgroepen.

Gevallen van paarse-urinezak-syndroom zijn zeldzaam. In de Nederlandstalige literatuur werd dit fenomeen slechts eenmaal beschreven.⁴ Het wordt vrijwel altijd gezien bij oude, bedlegerige vrouwen die gedurende lange tijd gekatheteriseerd zijn. Constipatie is een vaak gemeld symptoom. In tegenstelling tot eerdere publicaties lijkt het soort micro-organisme van ondergeschikt belang. Vaak is er sprake van een mengflora in hoge telling waarin bacteriën als *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* en *Enterococcus* spp. onderdeel van uitmaken.⁵ Het alkaliserende vermogen van bacteriën als *Proteus mirabilis* en *Providencia* spp. speelt een rol bij het ontstaan.^{3,5} Waarschijnlijk waren bij deze patiënte alle factoren aanwezig die samen het paarse-urinezak-syn-

Figuur 1. Metabolisme van indolringhoudende stoffen in de productie van indigoblauw en indigorood (overgenomen uit referentie 3).



droom veroorzaken: een bedlegerige en geobstipeerde patiënt met alkalische urine, waarin voldoende bacteriën met indoxylsulfatase-activiteit.

Diagnose: paarse-urinezak syndroom.

Summary

A case of purple urine bag syndrome.

In a 81 year old woman who had an indwelling urinary catheter for 8 weeks, a purple discoloration of her urine was observed. Diagnosis: purple urine bag syndrome.

Literatuur

1. Payne B, Grant A. Purple urine bags. *Lancet* 1978;1:502.
2. Arnold WN. King George III's urine and indigo blue. *Lancet* 1996;347:1811-3.
3. Dealler SF, Hawkey PM, Millar MR. Enzymatic degradation of urinary indoxyl sulfate by *Providencia stuartii* and *Klebsiella pneumoniae* causes the purple urine bag syndrome. *J Clin Microbiol* 1988;26:2152-6.
4. Corporaal S, Leemhuis MP. Diagnose in beeld: Paarse verkleuring van een urinezak. *Ned Tijdschr Geneesk* 2002;146:1686.
5. Mantani N, Ochiai H, Imanishi N, Kogure T, Terasawa K, Tamura J. A case-control study of purple urine bag syndrome in geriatric wards. *J Infect Chemother* 2003;9:53-7.

M. van Lieshout, assistent-geneeskundige, afdeling Inwendige Geneeskunde, St. Elisabeth ziekenhuis, Tilburg

B.M.W. Diederer, assistent-geneeskundige, afdeling Medische Microbiologie, St. Elisabeth ziekenhuis, Tilburg

Correspondentieadres:

Bram Diederer, Streeklaboratorium voor de volksgezondheid, Laboratorium voor Medische Microbiologie en Immunologie, St. Elisabeth Ziekenhuis, Postbus 747, 5000AS Tilburg, e-mail: b.diederer@elisabeth.nl, tel. (013) 5392655.

* Dankbetuiging aan Dr. J.J.H. Diederer voor het vervaardigen van de figuur.

Moleculaire filatelie in de medische microbiologie

A. VAN BELKUM

Rede uitgesproken op 16 december 2003 ter gelegenheid van de benoeming tot bijzonder hoogleraar in de moleculaire microbiologie vanwege Vereniging Trustfonds Erasmus Universiteit Rotterdam aan het Erasmus MC te Rotterdam.

Mijnheer de Rector Magnificus, leden van het bestuur van het Erasmus MC, gewaardeerde familieleden, vrienden en collegae.

Wetenschappelijk postzegels verzamelen

In De Volkskrant van 4 oktober 2003 citeerde columnist/natuurkundige Ad Lagendijk een stelling van Ernest Rutherford, de in 1937 overleden ontdekker van de atoomkern. Hij claimde dat natuurkunde de enige echte wetenschap is en dat alle andere vormen van onderzoek neigen tot postzegel verzamelen. Ter verdediging van moderne wetenschappers karakteriseerde Lagendijk de uitspraak van Rutherford als een voorbeeld van natuurkundige arrogantie. Verder memoreerde Lagendijk subtiel dat Rutherford zelf een Nobelprijs had geaccepteerd binnen een 'postzegelwetenschap', namelijk de scheikunde. Waarom sta ik stil bij een korte column in een landelijk dagblad? Ten eerste, omdat ik mij realiseer dat ondanks de heldere stelling van Lagendijk er in de hedendaagse wetenschap nog steeds sprake is van Rutherfordse opvattingen. Daarbij denk ik in eerste instantie aan de commentaren op projectvoorstellen, die ik en mijn collegae in voorbije jaren bij academische fondsenverstrekkers hebben ingediend. Onze voorgestelde onderzoeken naar genetische variatie bij micro-organismen werden regelmatig afgedaan als postzegel verzamelen zonder toegevoegde waarde. Blijkbaar leeft bij de geleerde vakbroeders die onze onderzoeksvoorstellen beoordeelden, nog steeds een Rutherford's vooroordeel. Verder, is exacte wetenschap wel zo fundamenteel verschillend van postzegel verzamelen? Lijkt mij niet: systematiek en orde zijn belangrijke grondvesten van zowel postzegel verzamelen als wetenschappelijk onderzoek. Wetenschappers proberen vragen te beantwoorden, problemen op te lossen. Dat doen alleen de uiterst getalenteerden uit de losse pols: ik ken er twee Wetenschappelijke onderzoeksvoorstellen worden geschreven, bekritiseerd en aangepast. Uiteindelijk ontstaat een raamwerk waarbinnen de wetenschapper enigszins filatelisch aan de slag gaat: experimentele gegevens worden verzameld, met andere woorden: postzegels worden losgeweekt, het liefst de duurste of mooiste exemplaren. Diezelfde gegevens worden ingepast in theorieën, de postzegels worden op een overzichtelijke wijze in een verzameling ondergebracht.

Belangrijke verschil tussen wetenschap en postzegel verzamelen is dat gegevens en theorieën openbaar worden gemaakt. Dit terwijl postzegels ergens op een plank in een kast uit beeld verdwijnen. Daarmee is postzegel verzamelen star: slechts één doel, het vervolledigen van de collectie, staat voorop. Een tweede belangrijk verschil tussen postzegels

verzamelen en het wetenschappelijk bedrijf is, filatelistisch gesproken, het feit dat een wetenschapper nog wel eens een eigen postzegeltje fabriceert. Waar de filatelist een volger is, dient de wetenschapper ook een ontwerper en ontwikkelaar te zijn. Dat vereist fantasie, intelligentie of doorzettingsvermogen, drie belangrijke capaciteiten van een onderzoeker, van minder belang voor de gemiddelde filatelist. Dit laatste verschil tussen wetenschapper en filatelist is tevens de belangrijkste aanleiding voor het gevoel van onderwaardering dat komt bovendrijven als iemand een parallel trekt tussen starre filatelie en je eigen wetenschappelijk onderzoek.

Microbiologische postzegelverzamelingen

Hoe verhoudt het bovenstaande zich nu tot mijn vakgebied, de medisch geïntereerde moleculaire microbiologie en wat houdt dit vakgebied precies in? Dit hoop ik u in het komend half uur verder uit de doeken te doen. Ten eerste zal ik u duidelijk maken dat gedurende de voorbije tien jaar wij binnen de Afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten van het Erasmus MC een zeer uitgebreide microbiologische postzegel verzameling hebben opgebouwd. Deze verzameling bestaat uit levende postzegels: de ziekmakende micro-organismen uit verscheidene patiënten waar wij ons onderzoek aan doen, er zijn zeldzame en meer algemene! Ik geef bij deze toe dat een belangrijk deel van ons werk een behoorlijk verzamelkarakter heeft gehad. Echter, daarnaast hebben we ook een aardig aantal eigen postzegels ontworpen gedurende de voorbije jaren. Dit betreft veelal technologische trucs waarmee we micro-organismen kunnen detecteren in patiënten en in het laboratorium nader kunnen identificeren aan de hand van specifieke karakteristieken van hun genetisch materiaal. Het gaat vandaag zeker niet alleen om de aard van de collecties die we hebben opgebouwd. Meer dan de gemiddelde filatelist zijn wij geïnteresseerd in hetgeen we nu daadwerkelijk, vandaag en in de toekomst, met onze verzamelingen aan diepere inzichten en kennisontwikkeling kunnen bewerkstelligen. Waar de filatelist slechts verzamelt en bewaart, zijn wij vanaf het begin van de jaren 90 pro-actief aan de slag gegaan.

Hedendaagse microbiologie in het ziekenhuis

Ter inleiding, waar staat de hedendaagse medische microbiologie nu voor? Binnen, maar ook buiten het ziekenhuis wordt patiëntgeïntereerd onderzoek gedaan naar het voorkomen en het beloop van infectieziekten. Met een grote verscheidenheid aan laboratoriumtechnieken zoekt de medisch-microbioloog verwoed naar de verwekkers van deze infectieziekten. Voor de leken in het publiek, het draait dan

om virussen, micro-organismen als bacteriën, parasieten, gisten en schimmels en soms zelfs om grotere organismen als wormen of externe parasieten, vlooien en luizen bijvoorbeeld. In het algemeen draait het om deeltjes die te klein zijn om eenvoudigweg met het blote oog waar te nemen. Voor de diagnostiek en nadere bestudering van virussen is een apart specialisme in het leven geroepen: de virologie. Ik zal vandaag niets over virologie vertellen. Een aantal andere, ook van radio en TV bekende Rotterdammers is hier veel beter toe in staat. Goed om te vermelden is echter dat ontwikkelingen binnen de virologie voor mij erg belangrijk waren en nog steeds zijn. Binnen het Erasmus MC zijn het de moleculair-virologische activiteiten van collega Bert Niesters die voor mij deels koersbepalend waren.

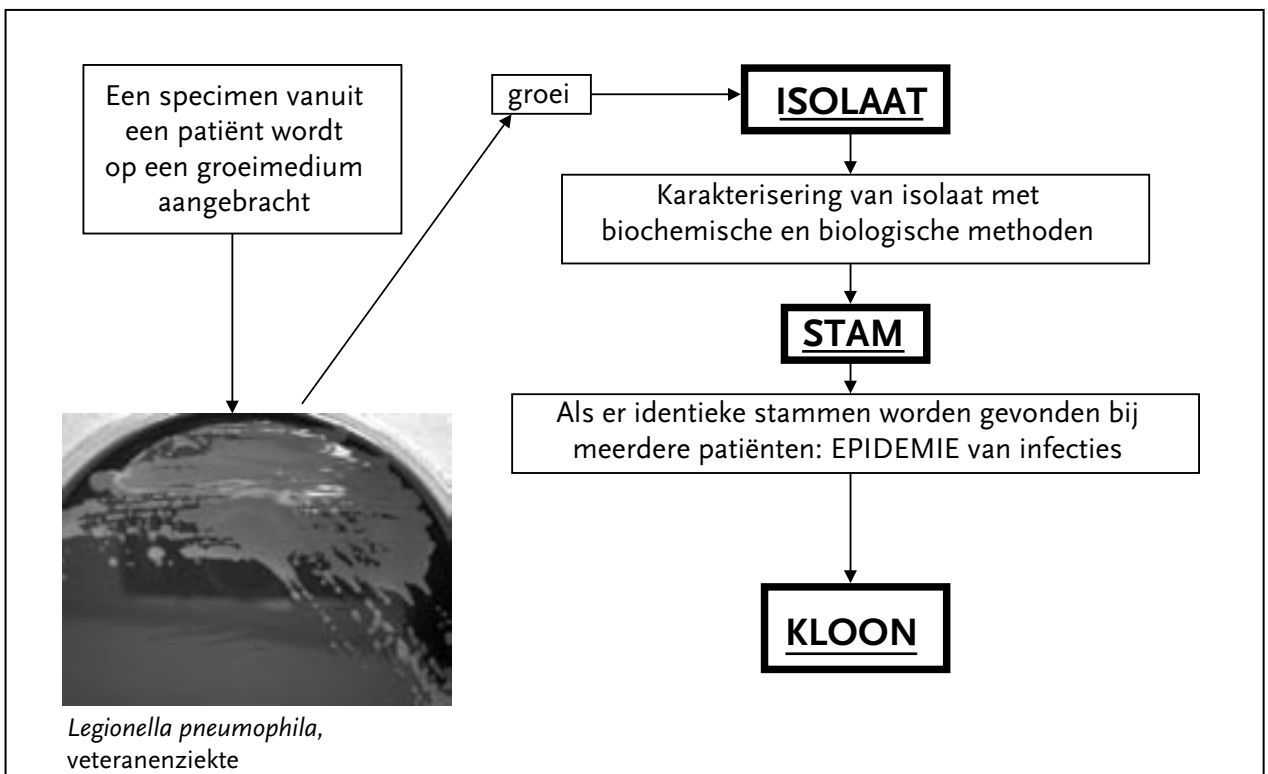
Gezien de grote biodiversiteit aan en kleine dimensies van non-virale infectieziekteverwekkers is het diagnostisch zoekproces binnen de medische microbiologie gecompliceerd. Met het blote oog is niet veel waarneembaar, een microscoop en handige kleurprotocollen zijn essentieel. Het meest toegepast wordt echter de kweek. De onzichtbare ziekteverwekkers worden op of in een kunstmatige voedingsbodem geplaast, waar ze voldoende te eten vinden om ze in staat te stellen zich snel voort te planten. Het resultaat van deze deling is dat na een nachtje stevig repliceren er zichtbare hoeveelheden van wat in eerste instantie een enkele cel was op de voedingsbodem waarneembaar zijn: een zogenaamde kolonie, waar wel 10 miljard cellen in kunnen samenklonteren, is gevormd. In de microbiologie spreken we in dit stadium van een isolaat van een micro-organisme. Geur, kleur, vorm, en nog een aantal andere karakteristieken vertellen de microbioloog al in grote lijnen om welke ziekteverwekker het gaat. De puntjes worden met behulp van slimme biochemische determinatiemachines op de spreekwoordelijke 'i' gezet. Een tot op het soortniveau geïdentificeerd isolaat noemt men ook wel een stam. Een verzameling sterk op elkaar lijkende, veelal identieke stammen, zeg maar:

dubbele postzegels, noemt men een kloon. Klonale verspreiding van een micro-organisme noemt men in de volksmond een epidemie: een besmettelijke stam wordt bij veel verschillende patiënten binnen een kort tijdsbestek aangetroffen. Epidemieën van cholera, tyfus, veteranenziekte of meningitis zijn nog steeds bekend van radio en TV. De begrippen isolaat, stam en kloon zijn belangrijk binnen microbiologische diagnostiek en epidemiologie van infectieziekten (figuur 1).

De microbioloog is ook in staat om op andere, meer indirecte wijzen een infectieverwekker te traceren, bijvoorbeeld aan de hand van in het bloed van een patiënt circulerende afweerstoffen. Nadelig aspect van de hierboven genoemde technieken, kort door de bocht, is dat de methoden veelal vrij veel tijd kosten, soms technisch complex zijn (en daarmee arbeidsintensief) en dat de uitslag van een test niet altijd zwart of wit is. Verder kost het een zieke mens een aantal weken voordat afweerstoffen aangemaakt zijn: dit maakt het gebruik van afweerstoffen voor de detectie van een acute infectie ongeschikt.

Wat er binnen de medische microbiologie nodig was, na bijna anderhalve eeuw op de conservatieve kweek te hebben moeten vertrouwen, waren meer universeel toepasbare diagnostische testen. Die kwamen in de tweede helft van de vorige eeuw langzaam ter beschikking: eerst werden de methoden rond afweerstoffen geïntroduceerd, kort daarna deed de moleculaire biologie zijn intrede in de stabiele 19^e-eeuwse wereld van Pasteur en Koch, de grondleggers van de meer klassieke microbiologie. Als deze twee grondleggers nog zouden leven zouden zij, misschien nog wel meer dan de huidige gemiddelde klinisch-microbioloog, moleculair-microbiologisch onderzoek enthousiast stimuleren.

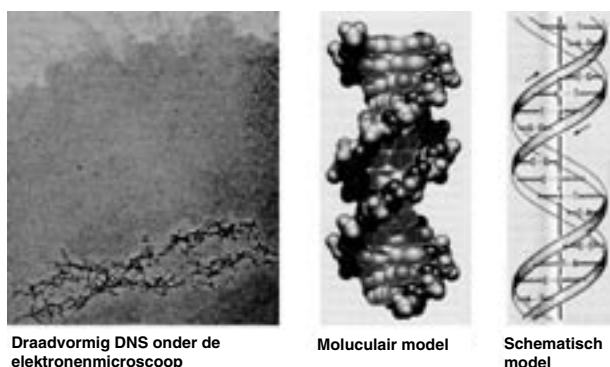
Figuur 1. Illustratie rondom de begrippen isolaat, stam en kloon.



De fundamenten van de medisch georiënteerde moleculaire microbiologie

De rode draad in de moleculaire microbiologie is dat alle ziekteverwekkende micro-organismen hun genetische informatie hebben gecodeerd op een draadvormig nucleïnezuurmolecuul. De door Watson en Crick bepaalde structuur van dit zogenaamde DNA heeft de basis gelegd voor al het moleculair microbiologische werk. De genetische informatie bestaat in de volgorde van de vier verschillende bouwstenen van het nucleïnezuurmolecuul en voor alle levende organismen zijn soortspecifieke stukken van hun genetisch materiaal te identificeren (figuur 2). Deze soortspecifieke volgorden van de DNA-bouwstenen kunnen met behulp van moleculaire biologie worden gedetecteerd. Daartoe heeft de moleculair-bioloog technieken als hybridisatie, restrictieanalyse, DNA-sequencing en PCR in de experimentele goocheldoos. Met deze goocheldoos in de hand bleek éénoog koning in het land der ziekteverwekkers: de moleculaire diagnostiek leek een aantal tekortkomingen van de klassieke microbiologie te kunnen verhelpen. Moleculaire methoden zijn zeer specifiek vanwege de uniciteit van de soortspecifieke delen van het te detecteren DNA en tevens zeer gevoelig vanwege het gebruik van slimme versterkingsmethoden zoals de polymerasekettingreactie ofwel PCR.

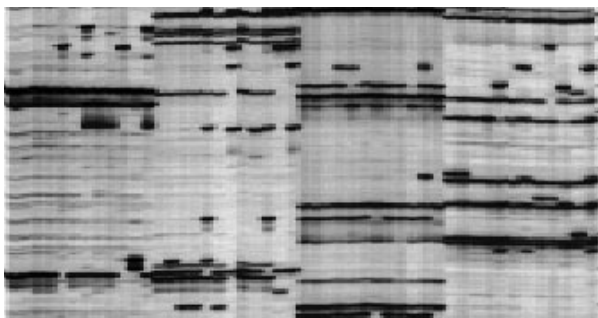
Figuur 2. De verschillende presentatievormen van DNA.



Bijvoorbeeld, een bacterie als *Chlamydia trachomatis* kan bij vrouwen onvruchtbaarheid veroorzaken en ooginfectie door *Chlamydia* kan tot blindheid leiden. Hoe de bacterie dit precies doet is nog niet opgehelderd, duidelijk is wel dat infecties met *C. trachomatis* opgespoord en genezen dienen te worden. Vroeger ging dit door uitstrijkjes uit te knijpen boven een kweek van menselijke cellen. De eventueel aanwezige bacterie moest die cellen infecteren en dat werd dan na verloop van tijd duidelijk vanwege veranderingen van de vorm van de menselijke cellen. Deze vorm van diagnostiek miste infecties, vergde veel laboratoriumexpertise en was daarbij ook nog eens tijdrovend en duur. DNA-detectie met moleculaire diagnostiek bleek veel sneller en gevoeliger, en daarmee uiteindelijk meer kosteneffectief. De nu gebruikte PCR-methode bleek ook nog eens automatiseerbaar en het gepruts met een wattenstokje was niet langer nodig: de PCR kon zelfs uitgevoerd worden aan urine of traanvocht! Een goed voorbeeld van moleculaire vooruitgang.

Ook kunnen met moleculaire methoden organismen beter gekarakteriseerd en geïdentificeerd worden tot op het individuele of stamniveau. De moleculaire methoden bleken niet alleen geschikt om met ja dan wel nee de vraag naar de eventuele aanwezigheid van een micro-organisme te beant-

Figuur 3. Voorbeelden van DNA-vingerafdrucken voor stammen van één bepaalde soort van een micro-organisme: verschillende stammen vertonen verschillen in de bandenpatronen.

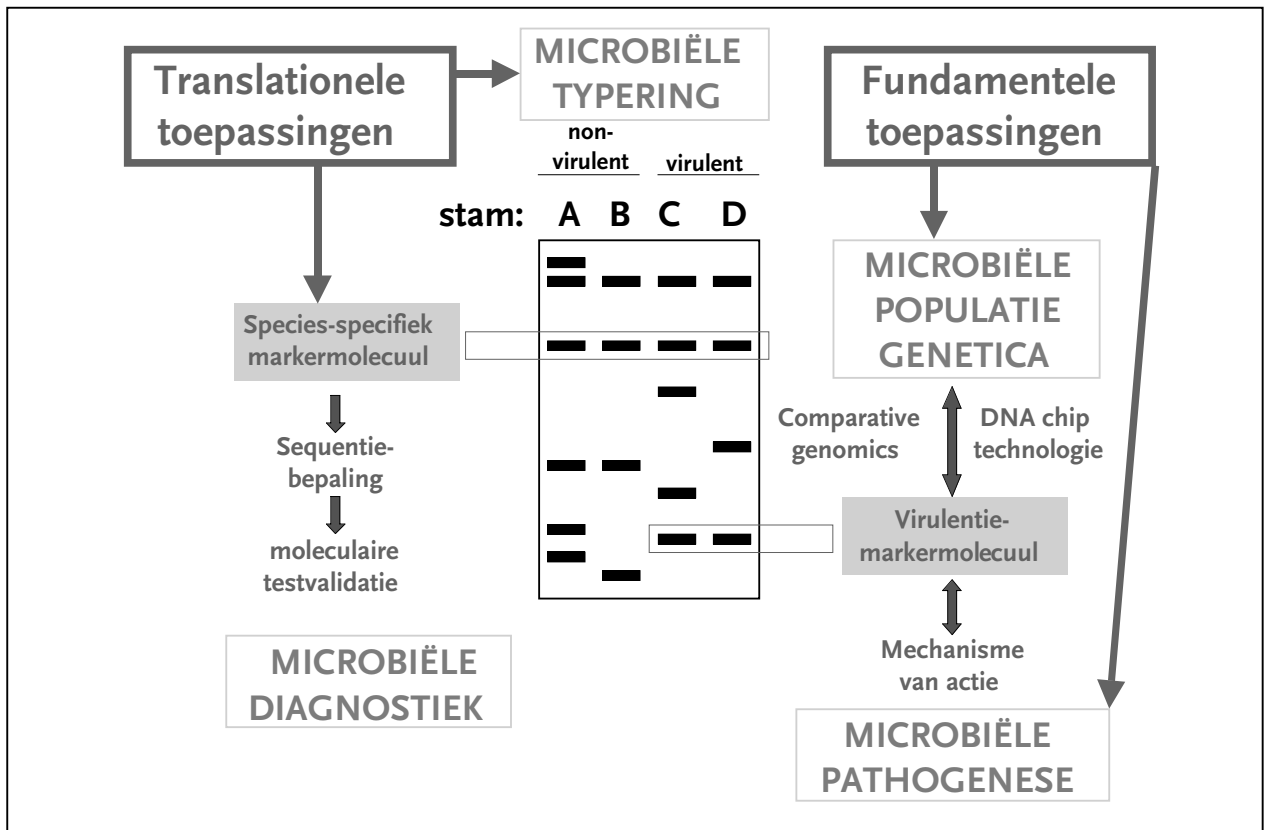


woorden, ook kon er een genetische vingerafdruk van die micro-organismen worden vastgesteld. In Rotterdam hebben we een uitgebreide expertise op dit gebied. Als je een stam van een ziekteverwekker op die manier van een unieke barcode hebt voorzien (figuur 3), kan je de verspreiding van dit micro-organisme bestuderen met behulp van moleculaire epidemiologie; eigenlijk, het catalogiseren van de genetische vingerafdrucken.

Zowel moleculaire diagnostiek als epidemiologie worden door veel 'echt fundamentele wetenschappers' niet als research betiteld maar als het verzamelen van postzegels. Persoonlijk spreek ik liever van translationele activiteiten: de vertaling van fundamentele genetische vindingen naar nuttige praktijktoepassingen binnen de patiëntenzorg staat hierbij centraal. Binnen een academisch medisch centrum dient deze categorie van onderzoek, meer dan nu het geval is, een hoogwaardige kernactiviteit te zijn.

Het moge duidelijk zijn: moleculaire technologie binnen het medisch-microbiologisch laboratorium is onmisbaar en ik neem gelukkig om mij heen waar dat, na initieel en aanhoudend scepticisme bij een aantal klassiek-microbiologische dinosauriërs, in toenemende mate moleculair-biologen binnen de medische microbiologie een baan vinden. Met het recentelijk wegvallen van de bizarre barrière tussen registerleden en de veelal moleculairgeschoolde niet-registerleden lijkt zelfs binnen de Nederlandse Vereniging van Medische Microbiologie een breekpunt bereikt. Blijkbaar worden (moleculair) biologen gezien hun waardevolle laboratoriumbrenge in toenemende mate geaccepteerd als volwaardig partner in het microbiologisch laboratorium. Dit uit zich ook in het feit dat moleculaire microbiologie momenteel een door de Stichting voor opleiding tot Medisch Biologisch Wetenschappelijk Onderzoeker (SMBWO) erkend vakgebied is. De inhoud van deze opleiding is, behalve een algemene papieren richtlijn, niet praktisch bestaand. Gestimuleerd en gestuurd vanuit de beroepsgroep der moleculair microbiologen zelf zal de opleiding de komende jaren een duidelijke inhoud dienen te krijgen. Er is dus nog steeds veel ontwikkel- en implementatiewerk te doen en ik ben ervan overtuigd dat de werksituatie binnen de afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten van het Erasmus MC, waar analisten, biologen, moleculair-biologen, informatici, apothekers, biofysici, arts-microbiologen en internist-infectiologen in goede harmonie met elkaar samenwerken, de gouden standaard dient te zijn.

Figuur 4. Het onderlinge verband tussen microbiële typering, diagnostiek, pathogenese en populatie genetica: translationele toepassing van kennis is vervlochten met fundamenteel onderzoek.



Moleculaire microbiologie in het centrum van diagnostiek, epidemiologie en pathogenese van infecties

Naast de praktische toepasbaarheid van moleculaire technologie binnen de diagnostiek en epidemiologie van infectieziekten is het moleculair speelgoed ook te gebruiken voor basaal microbiologisch onderzoek. Dit laatste is het door alle academici zeer serieus genomen fundamentele onderzoek. Onder geleide van de fingerprints is het fundamentele onderzoek te voeden: de DNA fragmenten getoond

in de genetische vingerafdrukken kunnen nader geanalyseerd worden (figuur 4). Ik wil met u twee voorbeelden van deze integrale benadering doornemen om aan te tonen dat moleculaire diagnostiek en epidemiologie naadloos over kunnen gaan in fundamenteel onderzoek. De experimentele overlap tussen deze verschillende kernactiviteiten is groot en via het fundamentele onderzoek proberen we inzicht te verkrijgen in de moleculaire basis van microbiële infectieziekteprocessen.

Het betreft hier twee voorbeelden van succesvolle onderzoeksspanningen van de afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten en haar partners binnen en buiten het Erasmus MC.

Eerste voorbeeld: de biologie van infectie door *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus is een bacterie die het meest bekend staat als de verwekker van steenpuisten. Postoperatieve wondinfecties, bloedvergiftiging, botontstekingen en krentenbaard bij kinderen zijn slechts een paar voorbeelden van andere, bij het grote publiek wat minder bekende maar daarom niet minder belangrijke stafylokokkenziekten. Bin-

nen het ziekenhuis worden veel stafylokok-gerelateerde problemen veroorzaakt door stammen die ongevoelig zijn geworden tegen antibiotica, waaronder meticillineresistente *Staphylococcus aureus* ofwel MRSA. Deze MRSA is een nootore veroorzaker van moeilijk te bestrijden infectieproblematiek, alhoewel dat in Nederland nog binnen de perken gebleven is, in tegenstelling tot de situatie in Zuid-Europese landen. Vaak zijn MRSA goed in staat om zich van patiënt tot patiënt te verspreiden en, indien ze eenmaal vaste voet onder de grond hebben, weer lastig uit de ziekenhuisomgeving te verwijderen. In sommige Zuid-Europese landen bijvoorbeeld wordt meer dan de helft van alle stafylokokkeninfecties bij intensive-care-patiënten door MRSA veroorzaakt. Belangrijke vragen zijn: hoe ontstaat MRSA en zijn MRSA in staat om grote afstanden af te leggen? We zijn in Rotterdam in staat geweest om met behulp van genetische fingerprints MRSA te vervolgen en hebben internationale studies gedaan in Duitsland, Nigeria, Polen, Portugal, Soedan, Turkije, en vele andere landen: ook de buitenlandse postzegel heeft onze belangstelling! Al deze studies lieten zien dat voor MRSA sterke verspreiding, ook over landsgrenzen, eerder regel dan uitzondering is. In conclusie, moleculair biologisch onderzoek aan verzamelingen van stammen van stafylokokken leidt tot opheldering van verspreidingsroutes en -gedrag van deze bacteriën. Belangrijke waarneming was dat er maar zes hoofdgroepen van MRSA wereldwijd voorkomen. Dit verschijnsel vangt men wederom onder de term klonaliteit: veel stammen zijn duidelijke nakomelingen van één en dezelfde voorouderstam. MRSA bestaat pas veertig jaar, omdat meticilline pas in de zestiger jaren werd geïntroduceerd, maar in die relatief korte periode hebben de MRSA-stammen de wereld rondgereisd. Door onze Rotterdamse filatelistenclub is toonaangevend epidemiologisch teamwork verzet, iets wat

geleid heeft tot duidelijke erkenning en steun vanuit de Europese beroepsgroep, de *European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. Met name via en vanuit de *European Study Group on Epidemiological Markers*. Prof. Marc Struelens uit Brussel is een zeer gewaardeerde onderzoekspartner van het eerste uur in deze.

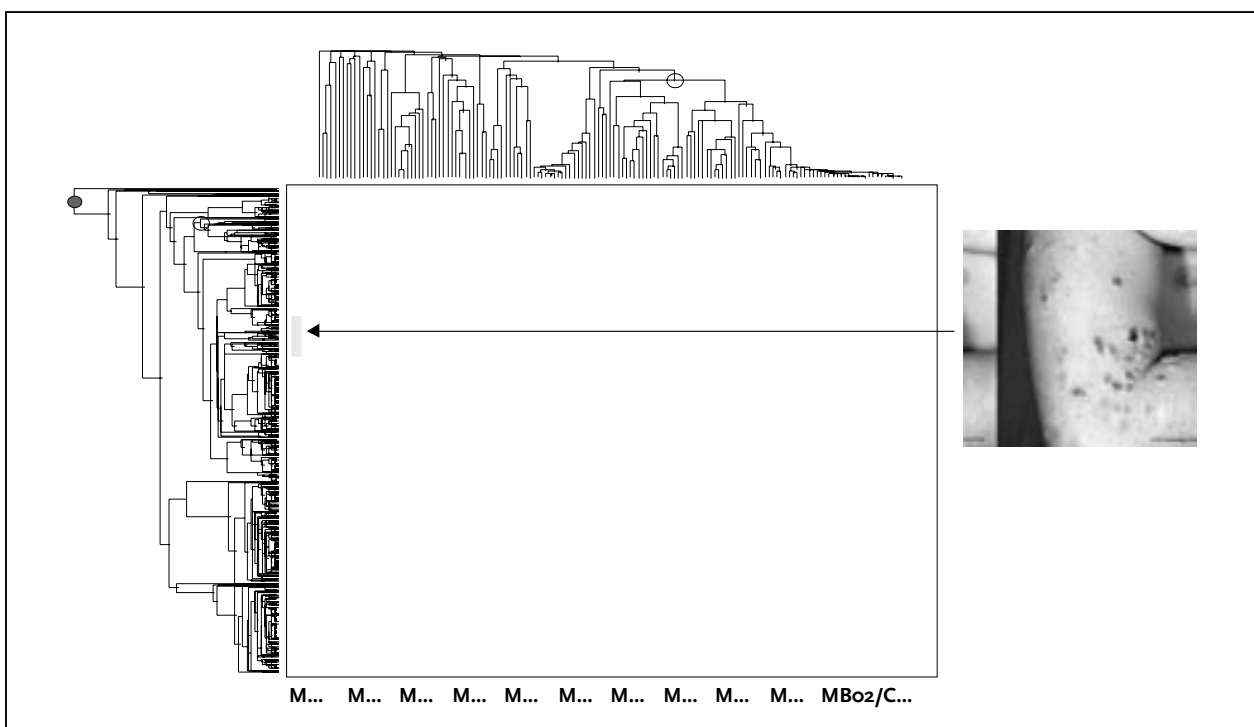
Is bacteriële klonale verspreiding, zoals bij MRSA, nu een algemeen fenomeen van stafylokokken en de ziektes die ze veroorzaken of is in het geval van specifieke stafylokokken-ziekten de aanwezigheid van bepaalde delen van het genetische materiaal, genen die voor bepaalde ziekmakende componenten coderen, van doorslaggevend belang? Deze laatste vraag hebben we trachten te beantwoorden in samenwerking met het Instituut Huisartsengeneeskunde van het Erasmus MC. Samen met de weer naar Brabant gevluchte Kees Verduin en de huisartsgeleerden Sander Koning en Hans van der Woude werden stafylokokken verzameld bij kinderen met krentenbaard, ook wel impetigo genaamd. Onze fingerprint-analyses toonden aan dat sommige stammen erg op elkaar leken, wat directe patiënt-tot-patiëntverspreiding als bij MRSA aannemelijk leek te maken (figuur 5). Nadere analyse echter toonde aan dat deze vorm van verspreiding waarschijnlijk voornamelijk plaatsvond op het kinderdagverblijf en de basisschool waar veel kinderen letterlijk samen-scholen. Dit is echter niet het complete plaatje: veel genetisch verschillende stafylokokstammen bleken ook in staat om infecties te veroorzaken en vaak waren die infecties uiterlijk verschillend: het ene kind had veel meer en veel grotere wonden dan het andere. Dit verschil hebben wij geprobeerd te verklaren door naar met name de 'ziekmakende genen' van de stafylokok te kijken. Dit zijn in het algemeen genen die coderen voor toxische producten. Er bleek dat de aan- of afwezigheid van deze genen de verschillen in klinische presentatie konden verklaren: kinderen die geïnfecteerd waren met een stam die meer van die ziekmakende factoren kon produceren, waren in het algemeen slechter af.

Samenvattend, *Staphylococcus aureus* is een bacteriesoort die zich makkelijk kan verspreiden van mens tot mens, daarbij worden grote afstanden afgelegd, zelfs oceanen vormen in deze geen barrière. In een steeds drukkerbereide wereld is de verspreiding van multiresistente micro-organismen een duidelijke bedreiging van de gezondheidszorg. Daarnaast hebben sommige stammen aantoonbaar meer zogenaamde virulentiegenen dan andere, iets wat duidelijk zichtbaar wordt als deze bacteriën infecties veroorzaken. De 'stafylokokken-postzegels' kunnen hiermee netjes gestempeld worden, iets wat uiteindelijk in de kliniek ook tot voorspellingen en daarmee infectiepreventie zou moeten kunnen leiden. Recent werden in verschillende landen stafylokokken aangetroffen die extreme, soms dodelijke longontstekingen veroorzaakten. Ook dit fenomeen was verklaarbaar: een enkel gen, coderend voor een zogenaamd leukocidine, was de reden! Therapie kan specifiek gericht worden op die stafylokokken waarvan, gezien het bezit van bepaalde genen, de grootste problemen verwacht worden. Dit soort voorspellende geneeskunde zal binnen afzienbare tijd de laboratoria en klinieken betreden en zal het management van patiënten met infecties verbeteren.

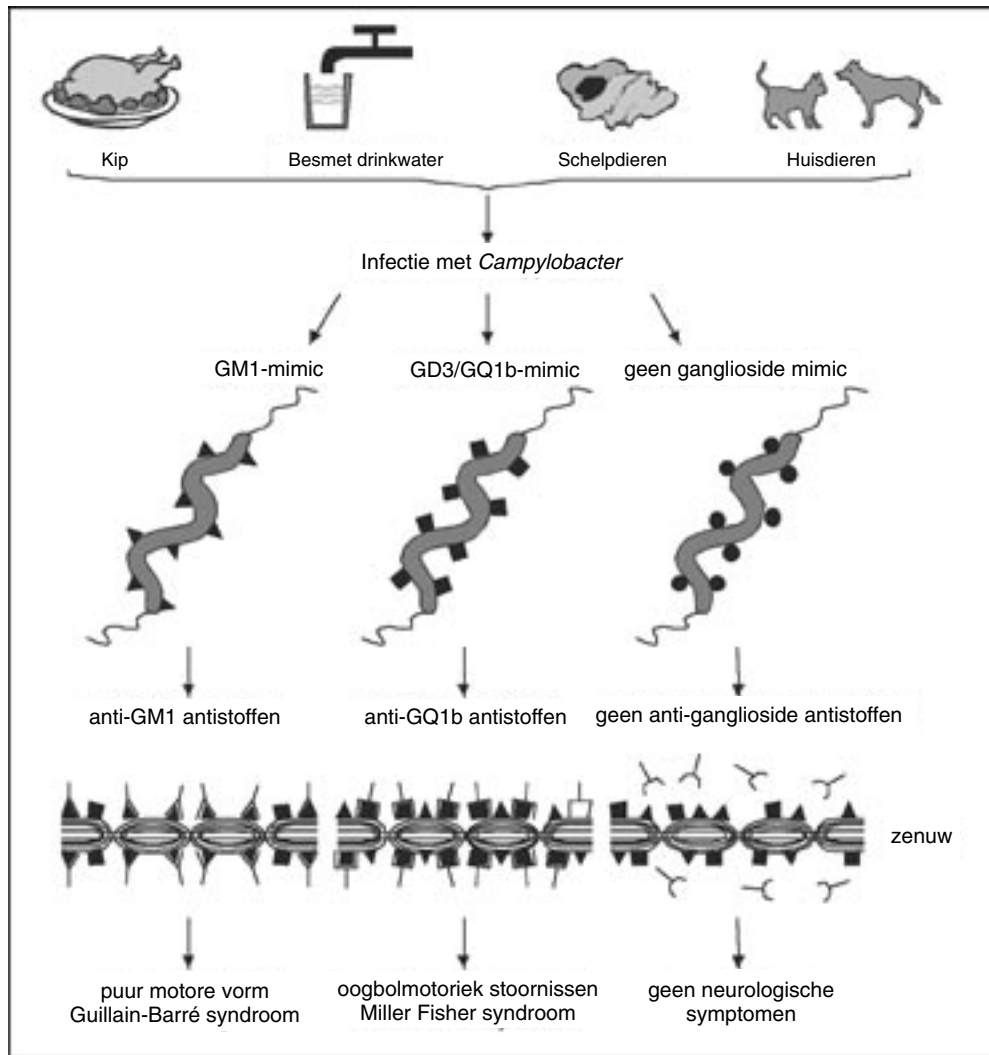
Tweede voorbeeld: hoe *Campylobacter jejuni* zijn gastheer de voet dwars zet

Een tweede voorbeeld, *Campylobacter jejuni*, een bacterie die van nature bij kippen voorkomt. Bij mensen veroorzaakt deze bacterie diarree, dat gaat meestal binnen een paar dagen weer over. In zoverre geen probleem. Echter, belangrijk onderzoek van een groep Japanners, maar ook immunologen en neurologen binnen het Erasmus MC liet zien dat bij een significant aantal patiënten lijdend aan het verlammingssyndroom van Guillain-Barré afweerstoffen tegen diezelfde *Campylobacter jejuni*-bacterie aantoonbaar waren. Dit heeft geleid tot een door collega's Jacobs en Ang onderbouwde werkhypothese dat de antilichamen die het resultaat waren

Figuur 5. Sommige *S. aureus*-stammen, geïsoleerd bij kinderen met impetigo, clusteren in een zeer klein gebied van de Rotterdamse *S. aureus*-stamboom, wat erop wijst dat klonale verspreiding van deze ziekteverwekker kan optreden.



Figuur 6. Als een mens wordt geïnfecteerd met een *Campylobacter jejuni* stam die op zijn oppervlak structuren draagt die lijken op vergelijkbare structuren op het oppervlak van perifeer zenuwweefsel kunnen de door de infectie opgewekte antilichamen kruisreageren met het al eerder genoemde zenuwweefsel. De zo geïnduceerde schade kan tot verlammingen leiden.



van de *Campylobacter*-infectie ook reageerden met menselijk zenuwweefsel. Met andere woorden: sommige *Campylobacter*s wekken blijkbaar een afweerreactie op die uiteindelijk leidt tot de vorming van *Campylobacter*-specifieke antistoffen die ook het eigen lichaam aanvallen. Dit noemt men auto-immuniteit en bij het syndroom van Guillain-Barré was die auto-immuniteit het waarschijnlijke resultaat van structurele overeenkomsten tussen het oppervlak van de bacterie en het oppervlak van menselijk zenuwweefsel (figuur 6). Verder onderzoek toonde aan dat het hierbij met name ging om structurele overlap tussen bacteriële en menselijke complexe suikermoleculen. Het fenomeen dat bacteriële componenten lijken op lichaamseigen stoffen noemt men moleculaire mimicry.

Arts-microbioloog Hubert Endtz maakte deel uit van het interdisciplinaire Guillain-Barré onderzoeksteam en heeft gedurende de klinische studies een collectie *C. jejuni* afkomstig van verschillende patiënten verzameld, stuk voor stuk zeldzame postzegels. Dit leverde de mogelijkheid om genetische fingerprints voor die stammen te maken. Variatie binnen het totale chromosoom van de bacteriën leverde geen aanwijzingen. In tegenstelling tot MRSA ging het hier dus niet om klonale verspreiding van één type ziekmakende bacterie, maar waren er waarschijnlijk één of enkele bacteriële genen bepalend voor het ziekmakend vermogen. Voor

meer gedetailleerd vergelijkend onderzoek hebben we vervolgens met moleculaire analyses de diversiteit in de genen die betrokken zijn bij de opbouw van de suikercomplexen aan de buitenkant van de *Campylobacter*-bacterie geanalyseerd. Dit onderzoek heeft geleid tot identificatie van de eerste genetische marker voor *Campylobacter*s met neuropathogeen vermogen. Ook hier bleek dat waarschijnlijk een beperkte set aan bacteriële genen de grondslag vormde voor het ziekmakend vermogen.

We proberen in het laboratorium nu de link tussen de aanwezigheid van deze genen en het verlamingsproces verder te verhelderen. We doen dit door de bacteriegenen selectief aan en uit te schakelen en de genactiviteit in kunstmatige infectiemodellen te bestuderen en daarbij ook direct de gastheerrespons op de aanwezigheid van subtiel verschillende bacterietypen vast te leggen. Het huidige dogma daarbij is dat niet alleen de bacterie bijdraagt aan de ontwikkeling van het ziekteproces maar dat zeker de ontvankelijkheid van de mens een zeer belangrijke rol speelt. Deze gast-gastheerinteractie speelt bij veel infectieziekten een belangrijke rol en de huidige technologische ontwikkelingen, vaak collectief benoemd als *genomics* en *proteomics*, zullen een belangrijke en sturende rol spelen bij het in kaart brengen van deze interacties.

Voor mij is het Guillain-Barré-onderzoek een goed voorbeeld van een echte Rotterdamse onderzoeksbenadering. Een con-

sortium van onderzoeksgroepen, elk van uit hun eigen specifieke interesse en expertise, besluiten om gezamenlijk een probleem aan te pakken. Het totaal blijkt dan sterker dan de som der delen, hetgeen recent nogmaals bleek toen ook mucosaal immunoloog Edward Nieuwenhuis tot het projectteam toetrad.

Toekomstige aspecten

In het vorige heb ik vooral de huidige stand der zaken belicht. Wat staat er de komende jaren te gebeuren? De mondiale infectieziektenproblematiek zal niet sterk verbeteren in het komend decennium. Het gebrek aan geschikte vaccins tegen de grote killers als AIDS, tuberculose en malaria is voorlopig blijvend. Zeker in de minder ontwikkelde gebieden waar de behoefte aan deze vaccins het grootst is. De stijging van het aantal bacteriesoorten die nauwelijks meer gevoelig zijn voor de gangbare antibiotica en het gemak waarmee die zich in onze reizigerswereld verspreiden, vormt een ander alarmrend beeld. De toenemende bevolkingsdichtheid, *global warming* en steeds grotere groepen mensen met andere ziekten die op zich weer predisponeren tot infectieziekten, zijn andere problemen. Er is meer dan ooit een sterke behoefte aan nieuwe strategieën om infectieziekten te bestrijden en het type geïntegreerd diagnostisch-epidemiologisch en fundamenteel onderzoek dat ik heb proberen te schetsen kan een centrale rol spelen gedurende de komende jaren. De integratie van klassieke en moleculaire microbiologie is hierbij essentieel. Er wordt veel van ons verwacht.

Dientengevolge zal er een steeds verdere integratie van diagnostiek en epidemiologische typering plaats moeten vinden, met direct daaraan een duidelijke link naar het basale onderzoek. Met slimme DNA-chips en breedsporige benaderingen zal de microbioloog in toenemende mate in staat gesteld worden om de diagnostiek te automatiseren en vergemakkelijken. De eerste generatie automaten is al voorhanden. Op het fundamentele onderzoeksvlak zullen genomics en proteomics, de technologieën die het mogelijk maken om het complete DNA-molecuul of alle eiwitten van een micro-organisme op een overzichtelijk wijze te karteren, een steeds prominenter plaats in gaan nemen. Deze holistische analyses zullen ons zicht op de interactie tussen mens en microbe op moleculair niveau zeer detaillistisch in beeld brengen. Voor *Staphylococcus aureus* bijvoorbeeld heeft infectioloog Jan Nouwen jaren geleden al laten zien dat leeftijd, geslacht, het wel of niet roken en de nuchtere bloedsuikerniveaus bepalend zijn voor succesvolle kolonisatie van de mens door de bacterie. Vanzelfsprekend zal daarmee ook ons inzicht in infectieziektenmechanismen en daaruit voortvloeiende therapie mogelijkheden evenredig toenemen. Nieuwe en snelle technieken, zoals massaspectrometrie, zullen ook belangrijke bijdragen leveren aan de verdere integratie van moleculaire technieken in het microbiologisch laboratorium. Deze technieken zullen de klassieke methoden echter nooit helemaal verdringen: kweek blijft belangrijk om een ziekteverwekker ter nadere bestudering levend in handen te krijgen. Ook ethisch complex dierexperimenteel werk zal voor bepaalde takken van onderzoek een noodzakelijk kwaad blijven. Het is echter duidelijk dat dierexperimentele expertise onmisbaar is voor het doen van goed medisch microbiologisch onderzoek.

Binnen de microbiologie is niet alles diagnostiek, typering en wetenschap, zeker niet binnen een academisch centrum.

Aan 'gevorderde academici' worden extra eisen gesteld: het is niet de bedoeling jezelf alleen te verdiepen in je hobby, er zal ook aan het reilen en zeilen van de vakgroep en het instituut in zijn geheel aandacht moeten worden besteed. Vaak is dit erg lastig voor wetenschappers met een specifieke training en opleiding. Naast je dagelijkse activiteiten dien je jezelf bezig te houden met zaken waarvoor je niet primair bent opgeleid. Echter, ontsnappen is onmogelijk en het is niet vaak dat je, en publieke, je gedachten daaromtrent kan ventileren. Bij deze neem ik de gelegenheid kort te baat!

Financiering van klinisch moleculair-microbiologisch onderzoek

Universitaire onderzoekers krijgen onderzoeksgeld van de universiteit. In Rotterdam doet men dit op een geflexibiliseerde wijze. Met andere woorden: een deel van je structurele onderzoeksbudget wordt je ontnomen en dat dien je al concurrerend met je collegae terug te verdienen. De kleine, supergespecialiseerde groepen worden daarvan de dupe en zullen op termijn weggeconcurrerd worden. Dit gaat ten koste van de diversiteit van onderzoek en dat is geen goede zaak.

Dit maakt tevens dat het verkrijgen van de zo broodnodige externe financiële steun nog meer een chronisch zorgkind wordt: financiering van microbiologisch wetenschappelijk onderzoek is in toenemende mate moeilijk, zeker in een wereld waar nog steeds de misvatting bestaat dat 'alles wel door de farmaceutische industrie betaald kan worden'. Daarnaast, acquisitie van bedrijfsmatige extramurale gelden wordt door de universiteit ten onrechte niet gehonoreerd bij hertoekenning van de geflexibiliseerde facultaire fondsen. Ook bij fondsenverstrekkers als NWO gebruikt men ongeneerd de elitaire term 'prestigieus' voor de door hen zelf, de KNAW en een beperkt aantal andere instellingen verstrekte subsidies, de rest van de financiële acquisities lijkt niet te tellen. Een vreemde manier van afrekenen!

Verder worden gelden in toenemende mate gelabeld voordat ze ter beschikking worden gesteld aan het onderzoeksveld. Leuk voorbeeld is het recent door NWO ingestelde fonds voor de allochtone onderzoeker. Normaal gesproken zou ik mij niet branden aan de discussie rond dit onderwerp, voor je het weet word je voor racist dan wel seksist uitgemaakt en een beetje postzegelverzamelaar blijft toch liever op de vlakte. Hoe dan ook, NWO wil de academische wereld aanzetten tot een specifieke jacht op getalenteerde allochtonen, daar waar ze eerder ook vrouwen in aparte programma's tot grotere hoogten wilden laten reiken. Dit heeft ertoe geleid dat één van mijn vrouwelijke collegae mij het volgende schreef: "Alex, een vrouwelijke gehandicapte allochtoon met kinderen heeft meer kans op NWO-geld dan een intelligente". De naam van de betrokkene hoeft hier niet vermeld te worden! Ik wil mij zeker niet achter wie dan ook verstoppen en benadruk: ik ben het volledig met haar eens. Selectie van goed onderzoek dient alleen op basis van de wetenschappelijke kwaliteit van de persoon, het voorgestelde werk en eventueel van de groep waarbinnen het onderzoek uitgevoerd zal gaan worden, plaats te vinden. Het objectief meten van dat laatste is al moeilijk genoeg.

Patiëntenzorg naast het onderzoek?

Binnen een medisch academisch centrum dient het wetenschappelijk onderzoek niet slechts naast de patiëntenzorg, maar in belangrijke mate in samenhang met deze zorg plaats

te vinden. Daarnaast hebben klinische wetenschappers ook de plicht om de patiënt op te zoeken en daadwerkelijk bij het onderzoek te betrekken. Onze afdeling laat zich op dat vlak niet ongemoeid en ik wil graag een fraai voorbeeld met u delen.

Patiënten met infectieziekten vinden we niet alleen in Nederland, in onze relatief veilige high-techomgeving. Grote groepen mensen met infectieziekten bevinden zich daar waar de zorg het dunst gezaaid is. In nauwe samenwerking met lokale onderzoekers en klinici in verre landen kunnen aansprekende resultaten geboekt worden. Zo promoveert morgen aan deze faculteit Abdalla Ahmed, Soedanees onderzoeker. Samen met zijn lokale baas, Professor Ahmed Fahal, en vele anderen verzorgen zij in Khartoum een grote groep patiënten met mycetoma, een vaak invaliderende en soms dodelijke schimmelinfectie. In 1997 hebben we besloten om gezamenlijk de sneldiagnostiek, epidemiologie, pathogenese en therapie van met name de vroege stadia van deze infectieziekte te gaan onderzoeken. Onder aanvoering van de Soedanezen zijn we in staat gebleken om in een kleine vijf jaar significante vorderingen te maken. Moleculaire detectie en identificatie van de schimmel is nu mogelijk en bij een aantal patiënten is deze methodologie al succesvol gevalideerd. Ahmed heeft bepaald dat de schimmel in de endemische gebieden gewoon in de grond voorkomt, iets wat met klassieke microbiologische kweek onaantoonbaar bleek te zijn. Deze waarneming verklaart deels de infectieroute, een belangrijke eerste stap voor toekomstige preventie. Misschien dat het simpelweg verstrekken van schoenen al een afdoende tegenmaatregel zou kunnen zijn! Daarnaast werd in samenwerking met Irma Bakker-Woudenberg een diermodel voor de schimmelinfectie ontwikkeld (figuur 7). Dit

model moet de komende jaren zijn waarde bewijzen: inzicht in het beloop van de infectie moet toenemen, terwijl ook de behandeling van de infectie via zo'n model verbeterd kan worden. Voor de schimmel zelf is in het laboratorium een methode ontwikkeld om de gevoeligheid voor antibiotica te bepalen. Dit dient op termijn te leiden tot een beter therapeutisch beleid rond mycetomapatiënten. Voor de komende jaren is er wederzijds de bereidheid om dit onderzoek te continueren. De mogelijkheden hiertoe zijn echter beperkt. NWO's tak voor wetenschappelijk onderzoek in de tropen (WOTRO) beoordeelde een eerste poging om een subsidie voor dit onderzoek te verkrijgen met lovende woorden, de term 'tropisch postzegel verzamelen' viel gelukkig nergens. Echter, het argument om de aanvraag ongehonoreerd te retourneren was vrij ontuchtend: voor subsidie is een 'kleine ziekte' als mycetoma de dupe van nul-prioriteit naast tuberculose, HIV/AIDS, trypanosomiasis en wormziekten. Ik kan mij daar deels in vinden In elk geval laten onze Afrikaanse activiteiten zien dat onderzoek dat 'dicht bij de pa-

tiënt' wordt uitgevoerd snel tot praktische toepassingen kan leiden. Integratie van onderzoek en klinische zorg is voor alle betrokken partijen stimulerend.

Onderwijs naast onderzoek

Een van de weinige nadelen van het werk in Rotterdam is het feit dat ik qua onderwijs op een verkeerde faculteit zit. Het moleculair-microbiologische werk is een vak apart en technisch staat het ver van de patiënt, al klinkt dat controversieel na de vorige paragraaf. Daarmee verliest het ongelukkigerwijs veel van de aantrekkingskracht voor medisch studenten. Dat vertaalt zich in een beperkt aantal aanmeldingen van Rotterdamse medische studenten die moleculairmicrobiologisch onderzoek ambiëren. Hun aantal was in de voorbije jaren op de vingers van een enkele hand te tellen. Dit is in tegenstelling tot het enthousiasme van diezelfde medisch studenten tijdens het eerste- en tweedejaars practicum. Het werken met de handen zijn ze dan blijkbaar nog niet verleerd en, veelal zonder enige vorm van voorbereiding overigens, storten zij zich met plezier op de simpele microbiologische proefjes. Gezien deze betrokkenheid en het latere gebrek aan interesse leeft bij mij de veronderstelling dat er ergens tussen het tweede jaar en het moment dat onderzoeksstages in beeld komen, iets mis gaat. Als dat een gevolg is van een voorkeur voor patiëntgebonden onderzoek: prima! Dat is conform de verwachtingen voor medisch studenten, op zoek naar een echte doktersbaan. Echter, mij bekruipt het gevoel dat wij als medisch/moleculair microbiologen ergens de slag missen. Immers, een redelijk aantal artsen doet laboratoriumonderzoek bij andere facultaire onderzoeksgroepen. Blijkbaar heeft men daar een systeem ontwikkeld om mensen op een vroeg moment aan zich te binden. De onderzoeksschool *Molecular Medicine*, in een belangrijk stadium van revitalisatie op dit moment, kan hopelijk een belangrijke rol gaan spelen bij de verdere popularisering van het moleculair microbiologische en virologische onderzoeksgebied. De ouderejaarsstudenten zouden via dit forum beter, anders, misschien wel completer, geïnformeerd kunnen worden. De recente oprichting van een specifieke sectie Infectieziekten, op het grensvlak van onze afdeling en Interne Geneeskunde, dient op termijn een andere manier van infectieziektengereleerde aantrekkingskracht op de medisch student te hebben.

Onderzoekers In Opleiding, Assistenten In Opleiding, Arts-Geneskundigen Niet in Opleiding, Arts-Geneskundigen In Klinische Opleiding, OIOs, AIOs, AGNIOs en AGIKOs, we zien de jongelui in steeds grotere getale voorbij komen. Binnen de microbiologie zijn het vaak jonge mensen die een opleiding tot medisch specialist moeten combineren met een promotietraject. Soms gaat dat goed, vaak ook wat minder. De vraag of de AGIKO-constructie een gelukkige is heb ik mij meermaals, door omstandigheden gedwongen, gesteld. Er wordt erg veel van de AGIKO verlangd en de huidige vorm dicteert dat een AGIKO eigenlijk zijn of haar promotieonderzoek binnen een bestek van een jaar of twee dient af te ronden. In het daarop volgende leertraject is nog wel wat onderzoekruimte, maar die is beperkt en meestal gericht op het aansturen van een analist, student of stagiair die de laatste kastjes uit het vuur mag halen. Regelmatig hebben wij het hier dan over een zeer aanzienlijk aantal, in het algemeen goed hete kastjes! Er wordt dus erg veel overgeheveld van de promovendus naar de begeleiders en ondersteuners en de vraag is of dit een bevredigende situatie is. In het verlengde van deze problematiek is de recente discussie over de weten-

Figuur 7. Manifestaties van infectie met de schimmel *Madurella mycetomatis* bij mensen en muizen.



schappelijke normen rond een academische promotie weinig praktisch van aard. Het beoogde aantal van vier tot vijf publicaties in goede wetenschappelijke tijdschriften zal door weinig AGIKO's op een zelfstandige wijze worden binnengehaald. Daarmee ontstaat een zeer groot verschil met enig ander promotietraject binnen de exacte wetenschappen. Tijd voor een heroverweging van het systeem lijkt mij. De goede tot excellente AGIKO's, want die zijn er ook, wens ik hier niet te kort te doen: zij zullen het echter met mij eens zijn dat promoveren binnen het AGIKO-bestaan stress met zich meebrengt.

Wij hebben als afdeling een grote bemoeienis met de opleiding van analisten. Daar staan de zaken er niet rooskleurig voor. De belangstelling voor het vak van microbiologisch analist is tanende. Misschien vanwege inhoudelijke misvattingen: echt, niet alles stinkt of is op een andere manier vies: het hengelen naar lintwormen is zeldzaam geworden en automatisering maakt het werk een stuk efficiënter. Een ander veel gehoord negatief argument is dat de beloning en het carrièreperspectief voor een analist in de medische microbiologie nu niet echt heel aantrekkelijk zijn. Ik onderschrijf dat en alhoewel de nieuwe ronde 'FUWAVAZ' de analytische functies wat beter gedifferentieerd neerzet met meer uitloopschalen gaat dat met name om research analisten en niet de, zoals dat met een denigrerend woord heet, 'routineploeg'. Persoonlijk vind ik dit scheef, een punt dat vanuit de staf van onze afdeling onverminderd aandacht behoeft en daarnaast vind ik dat managers die zeggen dat een functieherwaarderingstraject met inkomensgarantie budgetneutraal kan en moet plaatsvinden, ter plekke ontslagen moeten worden. Om op een positieve wijze af te sluiten: stagiaires vanuit het Hoger Laboratorium Onderwijs vormen een essentiële schakel binnen ons onderzoek. Velen gingen weg als co-auteur op een wetenschappelijke publicatie, velen bleven hangen op de afdeling en er zijn er zelfs die uiteindelijk academisch gepromoveerd zijn. Ik hoop dat dit aangeeft dat de interactie tussen HLO en Universiteit een zeer belangrijke is en ik hoop in de komende jaren meer betrokken te raken bij de intensivering van deze interactie.

Management naast het onderwijs en onderzoek

Elke grote, ambtelijke organisatie dient zichzelf regelmatig te verfrissen: er dient zo af en toe een lekker windje door de gelederen te waaien. 'Beter Besturen' was de gevleugelde kreet binnen het Erasmus MC. De faculteit en het ziekenhuis worden één en nieuwbouw moet er gepleegd worden. Kortom, roerige tijden. Mijn insteek is over het algemeen geweest: laat maar gaan al die ambtenarij, ik neem aan dat men weet waar men voor aangesteld is en dat hetgeen men doet door een degelijke architectonische, financiële of managementopleiding wordt ondersteund. Echter, ook ik heb de ambtenaar niet uit mijn kantoor weten te houden. Via Beter Besturen werden Units gevormd, onder geleide van de oude situatie, maar nu volgens het nieuwe organisatorisch stramien. Afdelingen werden samengevoegd tot Clusters en de

Clusters kregen Clusterbureau's toebedeeld: bemenst met goedwillende professionals. Helaas, naar nu in toenemende mate blijkt, worden deze werknemers bedolven onder een onwelriekende erfenis. Financiële administraties blijken een ramp, geld is over, veel vaker is het geld al op voordat het binnen is, maar kloppen doet het zelden. Mensen vanuit de oude organisatie zijn buiten de boot gevallen tijdens de selectie van de nieuwe generatie managers en het daarmee ontstane gat in praktijkkennis wordt beangstigend duidelijk. En, interessant, de problematiek komt per kerende post weer op het bord van afdelings- en unithoofden terecht. Zeg, weten jullie waar dat geld is gebleven? Of, weten jullie of dat geld al binnen is en zo ja op welke rekening het staat? Deze persoon op het personeelsoverzicht, werkt die hier nog en zo ja, waar komt zijn of haar salaris dan vandaan? Meer vragen dan antwoorden en je vraagt je af wat er in de voorbije jaren allemaal ongemerkt is misgegaan. Zou het kunnen zijn dat er iets teveel vergaderd wordt?

Tactloze wetenschappers als ikzelf moeten opeens gestructureerde jaargesprekken en slechtnieuwsgesprekken gaan voeren. Mijn vraag: "Kan dit niet via personeelszaken geregeld worden?" wordt beantwoord met een simpel: "Maar die mensen werken toch bij jou?" En meer van zulks. Kort door de bocht, wetenschappers met een non-ambtelijke training moeten ambtelijke problematiek op gaan lossen. Dat is vragen om verergering van de problemen. Antwoorden? Oplossingen? Niet van mij, ik ben slechts een eenvoudig filatelist met een gezonde allergie tegen wanorde. Maar dat er eens goed met ambtelijk vergrootglas, pincet en catalogus aan de gang gegaan moet, lijkt mij overduidelijk. Weggooien of ruilen van dubbele postzegels is echt hoognodig!

Samenvattend, de boeiende combinatie van moleculaire technologie en klinische microbiologie is een zeer sterke: de direct toepasbare applicaties zijn talrijk en er zijn nog spectaculaire ontwikkelingen te verwachten in het infectieziektenveld in de komende jaren. Integratie is hierbij het sleutelwoord. Dit zal zowel op diagnostisch en epidemiologisch vlak zijn translationele versterkingen leveren, terwijl de huidige klinischgeoriënteerde moleculaire werk- en denkwijzen ook binnen het fundamentele onderzoek een steeds prominenter plaats zullen innemen. Een flinke portie 'infectieverwekker verzamelen' past hier uitstekend bij. De moleculaire filatelie is zo oppervlakkig nog niet en helpt pathogenetisch en populatiegenetisch onderzoek aan essentiële input. Naast de immunoloog heeft ook de moleculair bioloog recht op een vaste stafpositie in het medisch-microbiologisch laboratorium.

Ik heb gezegd!

Prof. Dr. A. van Belkum, Afdeling Medische microbiologie en Infectieziekten, Erasmus MC, Dr. Molewaterplein 40, 3015 GD Rotterdam. Tel. (010) 4635813.

De diagnostiek en behandeling van *Helicobacter pylori*-infecties volgens de multidisciplinaire richtlijn 'Maagklachten'

DR. A.A. VAN ZWET

Inleiding

Het Kwaliteitsinstituut voor de Gezondheidszorg CBO stelde op verzoek van de overheid een richtlijn op voor de behandeling van maagschade.

Hiervoor werd een commissie samengesteld bestaande uit huisartsen, medisch specialisten (internisten, gastro-enterologen en een arts-microbioloog), apothekers en een epidemioloog. Namens de NVMM mocht ik hierin zitting hebben.

Na twee jaar commissiewerk is op 13 maart j.l. een concept-richtlijn gepresenteerd tijdens een bijeenkomst in Utrecht. Na consultatie van de diverse wetenschappelijke verenigingen is de richtlijn definitief vastgesteld. De definitieve richtlijn zal te vinden zijn op de website van het CBO (www.CBO.nl).

Hieronder volgt een kort overzicht van de afspraken die zijn gemaakt over de benadering van patiënten met maagklachten, waarbij uiteraard vooral aandacht wordt gegeven aan de aanbevelingen rond de diagnostiek en behandeling van *Helicobacter pylori*-infecties.

Het algemene beleid bij een patiënt met maagklachten

Maagklachten komen frequent voor. Schattingen naar de jaarlijkse incidentie van maagklachten in de algemene bevolking variëren van 10 tot 40 procent. Gemiddeld consulteert één op de vier patiënten met maagklachten de huisarts. Sociaal-economische gevolgen van maagklachten zijn substantieel: farmacotherapie voor maagklachten nam in 2001 in Nederland een totaal bedrag van 400 miljoen euro in beslag! Het merendeel van de maagklachten heeft een functionele achtergrond en de prognose is meestal gunstig: na een jaar is driekwart van de patiënten klachtenvrij. Daarom is er meestal geen reden tot een snelle diagnostische interventie.

Alleen wanneer er sprake is van een patiënt met *recidiverende en/of persisterende maagklachten* is volgens de commissie nader onderzoek geïndiceerd.

In willekeurige volgorde zijn dan drie benaderingen mogelijk:

- een proefbehandeling met een protonpompremmer (PPI)
- een *H. pylori*-test en - indien positief - gevolgd door behandeling
- een gastroscopie.

Heeft een eerste benadering onvoldoende effect, dan kan een andere optie worden overwogen. Welke van de drie opties als eerste wordt gekozen hangt af van het profiel en de achtergrond van de individuele patiënt.

Bij patiënten met typische refluxklachten (zuurbranden) die persisteren ondanks behandeling met H₂-receptorantago-

nisten, komt een proefbehandeling met PPI het meest in aanmerking.

Een *H. pylori*-test is vooral geïndiceerd bij patiënten met langdurige niet-refluxgerelateerde maagklachten en bij patiënten met een mogelijk ulcus in de voorgeschiedenis.

Bij het vermoeden op een gecompliceerde achtergrond, bijvoorbeeld bij de aanwezigheid van alarmsymptomen, maar ook wanneer er bij arts of patiënt een sterke behoefte aan diagnostische zekerheid bestaat, is gastroscopie de eerste keus.

De diagnostiek van *H. pylori*-infecties

Bij zogenaamde 'invasieve diagnostiek' worden tijdens gastroscopie bipten uit de maagwand genomen. *H. pylori*-bacteriën kunnen in die bipten histologisch worden aangetoond of met behulp van de zogenaamde CLO-test, een sneltest waarbij gebruik wordt gemaakt van de sterke urease-activiteit van de *H. pylori*. De derde mogelijkheid, het kweken van *H. pylori* uit de bipten heeft echter de voorkeur, niet in de laatste plaats vanwege het inzicht dat kan worden verkregen in het resistentiepatroon van de geïsoleerde stam.

Steeds vaker wordt echter *H. pylori* in de eerste lijn gediagnosticeerd zonder gastroscopie. Er zijn drie niet-invasieve detectiemethoden die in de eerste lijn kunnen worden ingezet: de *ureumademtest*, *serologische detectie* en de *faeces-antigeentest*.

Bij de ureumademtest slikt de patiënt met ¹³C- of ¹⁴C-gelabeld ureum. Als *H. pylori*-bacteriën aanwezig zijn, splitst het bacteriële enzym urease het ureum. Hierbij komt gelabeld CO₂ vrij, dat in de uitademingslucht wordt teruggevonden. In feite is de ademtest de meest betrouwbare niet-invasieve methode om een *H. pylori*-infectie aan te tonen.¹ De test is op dit moment echter niet overal in Nederland beschikbaar.

De laatste jaren zijn de faeces-antigeentesten in opmars. Bij nog onbehandelde patiënten hebben deze testen een gevoeligheid en specificiteit van meer dan 90 procent.² Ook met behulp van serologie worden dergelijke percentages gehaald.³ Voor controle na eradicatietherapie is de ureumademtest het meest geschikt (betrouwbaar tot ten minste vier weken na behandeling). Wanneer deze test niet beschikbaar is, geldt serologie als alternatief, waarbij echter een periode van zes maanden moet worden aangehouden om seroconversie betrouwbaar te kunnen aantonen.⁴ De faeces-antigeentesten zijn voor deze indicatie vooraanvoorsnog ongeschikt.

De behandeling van *H. pylori*-infecties

Indicaties voor behandeling

Er bestaat consensus over het feit dat bij een aangetoonde *H. pylori*-infectie er *altijd* therapie moet volgen.

Een punt van discussie is het belang van de behandeling van de infectie bij patiënten die langdurig protonpompremmers gebruiken. Kuipers et al. toonden aan dat *H. pylori*-positieve patiënten met refluxoesophagitis die behandeld worden met langdurige zuurremming, een verhoogd risico op atrofische gastritis hebben met mogelijk daardoor een grotere kans op maagkanker.⁵ Om die reden zou detectie en behandeling van *H. pylori*-infecties bij deze patiënten altijd geïndiceerd zijn. Andere auteurs hebben hierover een minder uitgesproken standpunt.⁶ De commissie is niet met een concreet beleidsadvies over dit item gekomen, maar het standaard aantonen en behandelen van *H. pylori* bij deze patiëntengroep valt zeker te overwegen.

De geadviseerde behandelingschema's

Bij niet-invasieve diagnostiek is uiteraard geen resistentiepatroon beschikbaar. De aanbeveling is om in die gevallen als initiële therapie in de Nederlandse situatie te kiezen voor het volgende tripeltherapieschema:

PPI (standaarddosering 2 dd), amoxicilline (1000 mg 2dd) en clarithromycine (500 mg 2dd) gedurende 7 dagen.

Indien bij falen van therapie nog steeds geen resistentiebepaling is verricht, is het voorschrijven van quadrupeltherapie gerechtvaardigd:

PPI (standaarddosering 2dd), bismutoxide (120mg 4dd), tetracycline (500 mg 4dd) en metronidazol (500 mg 3dd) gedurende 7 dagen.

Bij patiënten met penicillineovergevoeligheid komt het volgende schema in aanmerking:

PPI (standaarddosering 2 dd), metronidazol (500 mg 2dd) en clarithromycine (500 mg 2dd) gedurende 7 dagen.

Literatuur

1. Thijs JC, Zwet AA van, Thijs WJ, et al. Diagnostic tests for *Helicobacter pylori*: a prospective evaluation of their accuracy, without selecting a single test as the gold standard. *Am J Gastroenterol* 1996; 91:2125-29.
2. Arents NL, Zwet AA van, Thijs JC, Jong A de, Oudkerk Pool M, Kleibeuker JH. The accuracy of the *Helicobacter pylori* stool antigen test in diagnosing *H. pylori* in treated and untreated patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001;13:383-86.
3. Meijer BC, Thijs JC, Kleibeuker JH, Zwet AA van, Berrelkamp RJ. Evaluation of eight enzyme immunoassays for detection of immunoglobulin G against *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1997;35:292-94.
4. Kosunen TU, Seppälä K, Sarna S, Sipponen P. Diagnostic value of decreasing IgG, IgA, and IgM antibody titers after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1992; 339:893-95.
5. Kuipers EJ, Lundell L, Klinkenberg-Knol EC, et al. Atrophic gastritis and *Helicobacter pylori* infection in patients with reflux esophagitis treated with omeprazole or fundoplication. *N Engl J Med* 1996;334:1018-22.
6. Singh P, Indaram A, Greenberg R, Visvalingam V, Bank S. Long term omeprazole therapy for reflux esophagitis: follow-up in serum gastrin levels, EC cell hyperplasia and neoplasia. *World J Gastroenterol*, 2000;6:789-92.

Dr. A.A. van Zwet, arts-microbioloog, Streeklaboratorium voor Groningen en Drenthe, Ziekenhuis Bethesda, Dr. G.H. Amshoffweg 1, 7909 AA Hoogeveen.

Cursus in Tropische Geneeskunde en Reizigersgeneeskunde, Havana, Cuba

JACQUES F. MEIS

Meedoen aan een cursus in ons vakgebied die op een exotische plek ver van huis wordt gegeven, vooral in een land dat je nog nooit bezocht hebt en waar je nieuwsgierig naar bent, is aantrekkelijker dan dezelfde cursus in - laten we zeggen - Papendal volgen. Het is nog aantrekkelijker als het een land is dat op de drempel staat van een nieuwe tijdperk (Wat gebeurt er na Castro?) en een uniek georganiseerde gezondheidszorg heeft. En tot slot is het in het algemeen aangenaam als het een kleinschalig gebeuren betreft met maximaal 20 deelnemers van diverse specialismen en nationaliteiten.

Recent werd de derde vijf dagen durende *International Travel and Tropical Medicine Course op het Instituto Pedro Kouri (IPK)* in Havana gehouden. Deze cursus is een gezamenlijk initiatief van de Nederlandse tropendokter Peter de Beer en de Cubaanse leiding van het IPK. Het IPK, opgericht in 1937, is gelegen in een buitenwijk van Havana. Hier is alle kennis op het gebied van infectieziekten in Cuba geconcentreerd wat betreft wetenschappelijk onderzoek en patiëntenzorg. Er werken meer dan 700 stafmedewerkers en het instituut is een *WHO collaborating Center* op het gebied van tuberculose, dengue en leptospirose. Wat betreft dengue-onderzoek behoren ze ongetwijfeld tot de wereldtop. Het IPK heeft bijgedragen aan de ontwikkeling van diverse (eigen)vaccins, zoals dat tegen groep-B-meningokokken, leptospiren en hepatitis B. Bovendien is het IPK het Cubaanse nationale referentie-

laboratorium voor AIDS waar ook duizenden artsen uit Latijns-Amerika getraind worden.

De cursus bestaat uit 20 uren hoorcolleges over gevarieerde onderwerpen als cholera, tyfus, HIV-diagnostiek en therapie, hepatitis, giardiasis, amoebiasis, dengue, hanta, SARS, vogel-influenza, schistosomiasis, malaria, tuberculose en Ebola-virus. Alles is in de Engelse taal en wordt stevast gevolgd door discussies. Bovendien is optioneel gelegenheid om *hands-on*-praktijkervaring op te doen in laboratoriumdiagnostiek van bacteriologie en parasitologie, het volgen van *ward-rounds* en het bezoeken van andere laboratoria en lokale ziekenhuizen. Een ochtend wordt ingeruimd om kennis te nemen van aspecten rondom de huisartsenzorg inclusief huisbezoeken.

In Cuba is de gezondheidszorg, hoewel ontdaan van alle franje, naast het onderwijs nog een van de laatste verworvenheden van de revolutie. Ondanks de zeer slechte economische toestand van het land zijn de bijna 70.000 Cubaanse artsen nog altijd inventief genoeg om de zaak draaiende te houden. Mede door het werk op het IPK zijn 'tropische ziekten' verdwenen op Cuba. De incidentie van hepatitis A ligt dichterbij die van ontwikkelde landen dan bij die van de derde wereld, en tyfus is een zeldzaamheid. De kindersterfte ligt op hetzelfde niveau als in de VS en West-Europa en de levensverwachting is 76 jaar.

Ofschoon de cursus in een buitenwijk van Havana werd gehouden, verbleven de meeste deelnemers in het prachtige oude gedeelte van de stad vanwaar elke dag een busje de cursisten binnen 30 minuten naar de cursus bracht: alweer een gelegenheid om veel van Havana te zien.

Door in het centrum te verblijven was er ampel tijd om kennis te maken met deze historische stad, die ondanks het verval, nog steeds de grandeur van 100 jaar geleden uitstraalde. Tijdens het lopen door de nauwe straatjes met honderden architectonisch bijzondere huizen hoor je overal de opwindende ritmes van de Cubaanse Son-muziek. Mensen hangen voor hun huizen, drinken rum en spelen domino. Vrijwel alle huizen zijn in extreem vervallen staat terwijl er toch vaak tientallen mensen in wonen. Sterfte door omvallende muren en losse stenen komt veel voor. Het verdient dan ook aanbeveling om niet al te dicht onder wrakke balkons door te lopen. In Havana komen jaarlijks aanzienlijk meer balkons naar beneden dan in Maastricht. De andere

belangrijke factor die bijdraagt aan het beeld dat je met de tijdsmachine 50 jaar terug bent gegaan, zijn de duizenden oude zeer grote Amerikaanse automobielen van net na de tweede wereldoorlog die nog steeds in redelijk staat verkeren en dagelijks rondrijden.

Als je nog wilt kennismaken met een van de laatste verstokte communistische paradijzen is het nu tijd om te gaan omdat niemand kan voorspellen wat er zal zijn als Fidel zijn hielen heeft gelicht. Deze cursus is een prima gelegenheid om kennis te maken met bijzonder aardige Cubaanse collega's.

De volgende cursussen zijn van 1-5 november 2004 en van 14-19 maart 2005. Meer info is te verkrijgen bij mstropics@planet.nl.

Jacques F. Meis, arts-microbioloog, afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten, Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, Nijmegen

WERKGROEPEN EN VERENIGINGEN

Werkgroep Infectiepreventie

Op de website van de Werkgroep Infectiepreventie (WIP) zijn de volgende nieuwe richtlijnen geplaatst:

- Virale hemorrhagische koorts.
- Veilig werken in de voedingszorg.
- Preventie van besmetting met tuberculose in ziekenhuizen.
- Operatie geïsoleerde patiënten.
- Onderzoek en behandeling geïsoleerde patiënten.
- Microbiologische veiligheid onderhoud medische- en laboratorium-apparatuur.
- Kiemarme voeding.

- Handhygiëne voor medewerkers voedingsdienst.
- Maatregelen tegen overdracht van bijzonder resistente micro-organismen.

Mw.T. Daha, hygienist. Werkgroep Infectiepreventie, LUMC C9-43, Postbus 9600, 2300 RC Leiden. tel: 071-5266756, fax: 071-5266762, www.wip.nl.

PERSONALIA

Nieuwe aanmeldingen NVMM

- Dhr. J. Hays, Erasmus MC, afd. Medische Microbiologie & Infectieziekten, Postbus 2040, 3000 CA Rotterdam
- Mw. S.S.M. Nys, Academisch Ziekenhuis Maastricht, afd. Medische Microbiologie, Postbus 5800, 6202 AZ Maastricht
- Mw. I. Vliegen, Academisch Ziekenhuis Maastricht, afd. Medische Microbiologie, Postbus 5800, 6202 AZ Maastricht
- Mw. A.J. Buss, Academisch Ziekenhuis Groningen, afd. Medische Microbiologie, Postbus 30001, 9700 RB Groningen
- Mw. E.C. Bowles, Koperslagershoek 5, 3981 SB Bunnik
- Mw. Y.K. Gruijthuisen, Rosental 219, A-5741 Neukirchen am Grossvervediger, Austria
- Mw. Dr. F.F. Stelma, Academisch Ziekenhuis Maastricht, afd. Medische Microbiologie, Postbus 5800, 6202 AZ Maastricht
- Mw. E. Boelen, Academisch Ziekenhuis Maastricht, afd. Medische Microbiologie, Postbus 5800, 6202 AZ Maastricht

Adreswijziging

- M.P. Bergman, Erasmus MC, afd. Medische Microbiologie en Infectieziekten, Postbus 2040, 3000 CA Rotterdam (voorheen VU medisch centrum, Amsterdam)
- Mw. J. Berkhout, VieCuri Medisch Centrum voor Noord-Limburg, afd. Medische Microbiologie, Postbus 1926, 5900 BX Venlo
- Mw. M.C.A. Wegdam-Blans, Gelre Ziekenhuizen, locatie Lukas, afd. Medische Microbiologie en Infectieziekten, Postbus 9014, 7300 DS Apeldoorn
- Mw. Dr. C.E. Visser, Academisch Medisch Centrum, afd. Medische Microbiologie, Meibergdreef 9, 1105 AZ Amsterdam, (voorheen Diagnostisch Centrum SSDZ te Delft)
- H.L.J. Winter, Academisch Ziekenhuis Groningen, afd. Medische Microbiologie, Postbus 30001, 9700 RB Groningen

23 januari 2004 - R.W. Sanders

The HIV-1 envelope glycoproteins: folding, function and vaccine design.

Promotor: prof. dr. B. Berkhout. Co-promotor: prof. dr. J.P. Moore. Universiteit van Amsterdam, Academisch Medisch Centrum, afd. Humane Retrovirologie.

28 januari 2004 - H.S. El-Mubarak

Measles in Sudan. Diagnosis, epidemiology and humoral immune response.

Promotor: prof. dr. A.D.M.E. Osterhaus. Co-promotor: dr. R.L. de Swart. Erasmus Medisch Centrum Rotterdam, afd. Virologie.

20 februari 2004 - H.J.J.M.R. Reunen

^{99m}Tc-labeled interleukin-8 for imaging of infection and inflammation.

Promotores: prof. dr. F.H.M. Corstens, prof. dr. W.J.G. Oyen. Universitair Medisch Centrum St Radboud, afd. Nucleaire Geneeskunde.

24 februari 2004 - A.F. Labrijn

Neutralizing antibodies to the HIV-1 envelope glycoproteins.

Promotor: prof. dr. C.E. Hack. Co-promotores: dr. J.G. Huisman, dr. P.W.H.I. Parren. Universiteit van Amsterdam, Academisch Medisch Centrum, afd. Interne Geneeskunde.

25 februari 2004 - B. van den Hoogen

Human metapneumovirus. Discovery, characterisation and associated disease.

Promotor: prof. dr. A.D.M.E. Osterhaus. Erasmus Medisch Centrum Rotterdam, afd. Virologie.

25 februari 2004 - M. Barends

Respiratory Syncytial Virus (RSV) and asthma.

Promotores: prof. dr. A.D.M.E. Osterhaus, prof. dr. H.J. Neijens. Co-promotor: dr. T.G. Kimman. Erasmus Medisch Centrum Rotterdam, afd. Virologie.

10 maart 2004 - M.E.H. Khan

Typhoid fever in a south african in-patient population.

Promotores: prof. dr. J.E. Degener, prof. dr. A.W. Sturm. Rijks Universiteit Groningen, Fac. Geneeskunde, afd. Medische Microbiologie, University of Natal Medical School, Durban.

11 maart 2004 - M. de Wit

Microbial components as adjuvants in rational vaccine design.

Promotor: prof. dr. M.C. Horzineck. Co-promotores: dr. V.E.J.C. Schijns, dr. B.L. Haagmans. Universiteit Utrecht, Fac. Diergeneeskunde, hoofdafd. Infectieziekten en Immunologie, afd. Virologie.

17 maart 2004 - C.A.M. Rietmeijer

Lessons in HIV/STD prevention.

Promotor: prof. dr. R.A. Coutinho. Co-promotor: prof. dr. F.N. Judson. Universiteit van Amsterdam, GGGD, Divisie Volksgezondheid en Milieu.

8 april 2004 - I. Vliegen

G protein-coupled receptors encoded by members of the cytomegalovirus UL 33 gene family: characteristics of and structural requirements for constitutive signaling. Promotor: prof. dr. C.A. Bruggeman. Co-promotor: dr. C. Vink. Academisch Ziekenhuis Maastricht, afd. Medische Microbiologie.

15 april 2004 - J. Branger

Mechanisms of immune activation during infection.

Promotores: prof. dr. T. van der Poll, prof. dr. P. Speelman. Universiteit van Amsterdam, Academisch Medisch Centrum, afd. Interne Geneeskunde.

16 april 2004 - S. Weijer

Interaction between inflammation, coagulation and fibrinolysis during infection. Promotor: prof. dr. T. van der Poll. Universiteit van Amsterdam, Academisch Medisch Centrum, afd. Interne Geneeskunde.

22 april 2004 - J. Verweij

Molecular tools in the diagnosis of intestinal parasitic infections.

Promotor: prof. dr. A.M. Deelder. Co-promotor: dr. A.M. Polderman. Leids Universitair Medisch Centrum, vakgroep Parasitologie.

23 april 2004 - M.D. van de Wetering

Prediction and prevention of infectious complications in children with cancer.

Promotor: prof. dr. H.N. Caron. Universiteit van Amsterdam, Academisch Medisch Centrum, afd. Kindergeneeskunde.

28 april 2004 - R. van Bruggen

Built for the kill; studies on the neutrophil NADPH oxidase.

Promotor: prof. dr. D. Roos, Universiteit van Amsterdam. Co-promotores: dr. R.S. Weening, Universiteit van Amsterdam, prof. dr. T.W. Kuipers, AMC Amsterdam.

12 mei 2004 - M.A. Tijms

Nsp1, a multifunctional regulator of the arterivirus life cycle.

Promotor: prof. dr. W.J.M. Spaan. Co-promotor: dr. E.J. Snijder. Leids Universitair Medisch Centrum, afd. Medische Microbiologie.

14 mei 2004 - J. van Buul

Signalling in leukocyte-transendothelial migration: a road-map for the homing of progenitor cells.

Promotor: prof. dr. D. Roos, Universiteit van Amsterdam. Co-promotores: dr. P.L. Hordijk, dr. C.E. van der Schoot, Sanquin, divisie CLB, Amsterdam.

Groter behandelingsucces en minder sterfte met VFEND® (voriconazol) in unieke aspergillosestudie

In een internationale klinische studie die zowel vanwege de omvang als de uitkomsten uniek genoemd mag worden, zijn VFEND (voriconazol) en amfotericine B rechtstreeks met elkaar vergeleken bij patiënten met invasieve aspergillose. In deze wereldwijde studie werden 391 immuungecompromitteerde patiënten met bewezen of waarschijnlijke invasieve aspergillose gerandomiseerd. Behandeling met VFEND leidde tot een significant groter behandelingsucces en een significant hoger overlevingspercentage dan de standaardbehandeling met conventioneel amfotericine B.

VFEND (voriconazol)

VFEND is een nieuw krachtig antimycoticum dat geregistreerd is voor de behandeling van invasieve aspergillose, fluconazol-resistente ernstige invasieve *Candida*-infecties en ernstige schimmelinfecties veroorzaakt door *Scedosporium* spp en *Fusarium* spp [1]. VFEND heeft *in vitro* een breed werkingsspectrum laten zien met activiteit tegen uiteenlopende schimmels waaronder verschillende *Aspergillus* species [2-5]. Het is o.a. actief tegen *Aspergillus terreus*, een species die vaak resistent is voor amfotericine B]. VFEND is dan ook klinisch uitgebreid onderzocht bij patiënten met invasieve aspergillose [6-8].

VFEND is beschikbaar als formulering voor intraveneuze toediening en als tablet voor orale behandeling. Dit biedt de mogelijkheid om te switchen van toedieningsroute, bijvoorbeeld van een intraveneuze oplaadfase naar orale onderhoudsbehandeling [1].

Unieke gerandomiseerde studie: VFEND vs. amfotericine B [6]

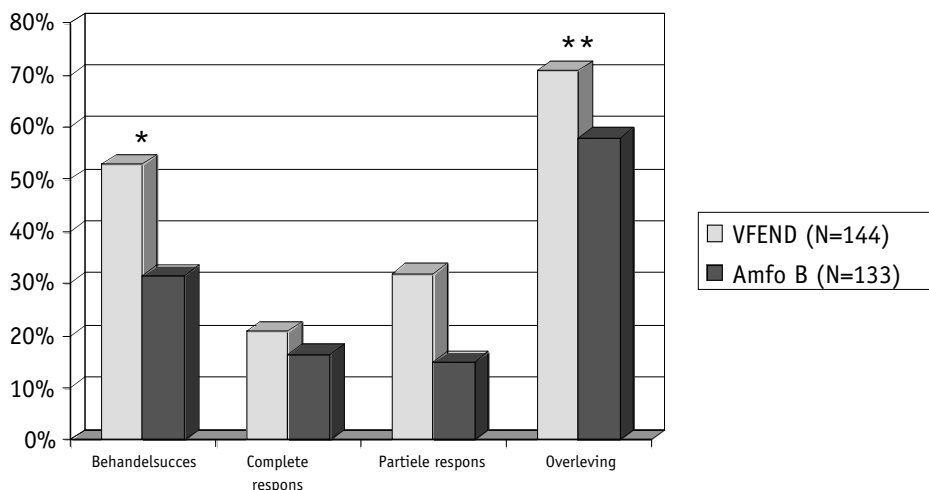
Het is niet eenvoudig om grootschalige klinische studies met antimycotica bij patiënten met invasieve aspergillose uit te voeren. Studies met honderden patiënten werden dan ook tot voor kort vrijwel niet aangetroffen in de literatuur. In augustus 2002 is echter door Herbrecht *et al.* de grootste gerandomiseerde studie ooit bij dergelijke patiënten gepubliceerd in het toonaangevende *New England Journal of Medicine* [6]. In totaal werden in deze internationale studie 391 patiënten gerandomiseerd, 197 naar VFEND en 194 naar amfotericine B. Het betrof immuungecompromitteerde patiënten van 12 jaar en ouder met bewezen of waarschijnlijke invasieve aspergillose. Hun gecompromitteerde immunestatus had uiteenlopende oorzaken, zoals orgaan- en beenmergtransplantaties, hematologische maligniteiten, aplastische anemie, myelodysplastisch syndroom, AIDS en behandeling met corticosteroiden.

De behandeling met VFEND bestond uit een intraveneuze oplaaddosering op de eerste dag, gevolgd door intraveneuze behandeling gedurende minimaal 7 dagen. Daarna bestond de mogelijkheid om te switchen naar orale onderhoudsbehandeling. Als referentiebehandeling werd amfotericine B gebruikt, intraveneus toegediend in de aanbevolen dosering. De totale behandelingsduur in beide groepen was 12 weken. Bij onvoldoende effectiviteit of bijwerkingen op de ene behandeling kon de patiënt overgezet worden op een ander geregistreerd antimycoticum.

Groter behandelingsucces en minder sterfte bij VFEND

Behandeling met VFEND ging gepaard met een significant beter behandelingsucces dan behandeling met amfotericine B. Het percentage patiënten met een complete of gedeeltelijke klinische en/of radiologische respons in de VFEND-groep was significant hoger dan in de amfotericine B-groep (modified intention-to-treat-populatie). Eén van de meest opmerkelijke uitkomsten was de significant lagere sterfte in de VFEND-groep gedurende de 12 weken durende behandeling (zie figuur) [6].

Percentage patiënten



* Verschil VFEND-amfotericine B: 21,2%; 95%-betrouwbaarheidsinterval van het verschil: 10,4-32,9%

** Verschil VFEND-amfotericine B: 13%; P=0,02

Van de mogelijkheid om van behandeling te wisselen wegens onvoldoende effectiviteit, of bijwerkingen, was na 12 weken minder vaak gebruik gemaakt in de VFEND-groep (15% van de patiënten) dan in de amfotericine B-groep (35% van de patiënten). De VFEND-behandeling gaf aanleiding tot significant minder ernstige bijwerkingen, in het bijzonder nierfunctieverlies (2 vs. 19 patiënten; $P < 0,001$) en hypokaliëmie (0 vs. 6 patiënten; $P = 0,01$) dan behandeling met amfotericine B [6].

Conclusies

In deze studie bij patiënten met invasieve aspergillose die uniek is vanwege haar omvang, zijn belangrijke verschillen gevonden tussen VFEND en de standaardbehandeling met conventioneel amfotericine B:

- VFEND geeft een significant beter behandelsucces (complete of partiële respons)
- Behandeling met VFEND gaat samen met 13% overlevingswinst in vergelijking met amfotericine B
- VFEND geeft significant minder aanleiding tot ernstige bijwerkingen dan amfotericine B
- Er is minder vaak aanleiding om van behandeling te switchen bij patiënten die met VFEND behandeld worden

Referenties

1. VFEND Samenvatting van de productkenmerken. Pfizer, 2003.
2. Johnson LB, Kauffman CA. Voriconazole: a new triazole antifungal agent. Clin Infect Dis 2003;36:630-637.
3. Pearson MM, Rogers PD, Cleary JD, Chapman SW. Voriconazole: a new triazole antifungal agent. Ann Pharmacother 2003;37:420-432.
4. Espinel-Ingroff A, Boyle K, Sheehan DJ. In vitro antifungal activities of voriconazole and reference agents as determined by NCCLS methods: Review of the literature. Mycopathologia 2001;150:101-115.
5. Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, et al. In vitro activities of voriconazole, posaconazole, and four licensed systemic antifungal agents against Candida species infrequently isolated from blood. J Clin Microbiol 2003;41:78-83.
6. Herbrecht R, Denning DW, Patterson TF, et al. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. N Engl J Med 2002;347:408-415.
7. Denning DW, Ribaud P, Milpied N, et al. Efficacy and safety of voriconazole in the treatment of acute invasive aspergillosis. Clin Infect Dis 2002;34:563-571.
8. Walsh TJ, Lutsar I, Driscoll T, et al. Voriconazole in the treatment of aspergillosis, scedosporiosis and other invasive fungal infections in children. Pediatr Infect Dis J 2002;21:240-248.

*=Nieuw

1 JUNI 2004

Nederlandse Werkgroep Klinische Virologie

Diakonessenhuis, Utrecht.

Informatie: Secretariaat Nederlandse Werkgroep Klinische Virologie p/a Medisch Microbiologisch Laboratorium, Diakonessenhuis, Bosboomstraat 1, 3582 KE Utrecht, e-mail: jkaan@diakhuis.nl.

7 JUNI 2004

305^e Bijeenkomst van de Werkgroep Oost, medische microbiologie

Huize Heyendaal, Nijmegen. Aanvang 14.30 uur.

Informatie: J.A. Kaan, tel.: 030-256 67 48.

18-22 JULI 2004

7th Annual Summer meeting van de European Society for Clinical Virology (ESCV)

ESCV Meeting, Madrid, Spanje.

Informatie: J. Schirm, Streeklaboratorium Volksgezondheid, Postbus 30039, 9700 RM Groningen, tel.: 050-521 51 60, fax: 050-527 14 88, e-mail: schirmj@compuserve.com, http://www.escv.org.

30 AUGUSTUS – 1 SEPTEMBER 2004*

AIDS Vaccine 2004 International Conference

Lausanne, Zwitserland. http://www.aidsvaccine04.org

5-9 SEPTEMBER 2004

2nd European Congress of Virology, Eurovirology

Madrid, Spanje. Inf: General Moscardó 32, 10 A 28020 Madrid

- Spain. tel.: 00 34 91 534 05 40, fax: 00 34 91 535 26 01, e-mail: secretariat@madridvirology2004.com

6 SEPTEMBER 2004

306^e Bijeenkomst van de Werkgroep Oost, medische microbiologie

Huize Heyendaal, Nijmegen. Aanvang 14.30 uur.

Informatie: J.A. Kaan, tel.: 030-256 67 48.

20-24 SEPTEMBER 2004*

4th International Giardia Conference and first combined Giardia/Cryptosporidium meeting

Oude Kerk, Amsterdam. Inf: Congress care. Tel: 073-6831238.

E-mail: info@congresscare.com.

13 OKTOBER-2 NOVEMBER 2004

44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC)

Washington, DC, Verenigde Staten.

Informatie: ASM, 1752 N Street, NW Washington, DC 20036-2804, Verenigde Staten, e-mail: ICAAC@asmusa.org, http://www.icaac.org/ICAAC.asp.

6 DECEMBER 2004

307^e Bijeenkomst van de Werkgroep Oost, medische microbiologie

Huize Heyendaal, Nijmegen. Aanvang 14.30 uur.

Informatie: J.A. Kaan, tel.: 030-256 67 48.

2-5 APRIL 2005

15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

Kopenhagen, Denemarken.

Informatie: 15th ECCMID 2005, c/o AKM Congress Service, CH-4005 Basel, Zwitserland, e-mail: info@escmid.org.

27-29 APRIL 2005*

5th International Symposium on Antimicrobial Agents and Resistance (ISAAR)

Seoul, Korea. Inf: Asian-Pacific Research Foundation for Infectious Diseases (ARFID); 50 Ilwon-dong, Kangnam-ku, Seoul 135-710, Korea. Tel: +82-2-3410-0327 Fax +82-2-3410-0023. E-mail : isaar@ansorp.org.

21-24 SEPTEMBER 2005

45th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC)

New Orleans, Louisiana, Verenigde Staten.

Informatie: ASM, 1752 N Street, NW Washington, DC 20036-2804, Verenigde Staten, e-mail: ICAAC@asmusa.org, http://www.icaac.org/ICAAC.asp.

Onderwerp:	Pagina	Auteursindex:	Pagina	
accidenteel bloedcontact	99	Agtmael MA	80	Vandenbroucke-Grauls CMJE 55,58
AIDS	114	Anyo G	85	Verhoef J 78
artemisininepreparaten	22	Arends JP	55	Verweij PE 68
Coronavirus	106	Bakker K	17	Vos G 58
cytokinen	5	Beckers P	53	Voss A 55
diabetes mellitus	5,8,12,17	Boer AS de	28	Vries G de 27
diabetische voet	17	Bonten MJ	55	Wannet WJB 40
encefalitis	47	Boogaarts HD	53	Wertheim HFL 75
<i>Escherichia coli</i> O157	40	Bouter KP	8	Wilke H 85
Europese regelgeving	70	Bruggeman CA	79	Wille JC 28
<i>Flaviviridae</i>	47	Buiting AGM	55	Zwaluw WK van der 40
gastro-enteritis	40	Daha T	67	
HIV-screening	110	Degener JE	70	Voor de auteursindex van het
HUS	40	Diepersloot RJA	4,8	Voorjaarscongres wordt verwezen
in memoriam	29,83	Dijkshoorn L	79	naar het Supplement bij de elfde
index jaargang 10	33	Dissel JT van	47	jaargang.
infectiepreventie	99	Donnelly JP	56	
infectiepreventieprotocol	99	Dorigo-Zetsma W	114	
influenza	8	Duynhoven YTHP van	40	
internist-infectioloog	80	Endtz HP	55	
intravasculaire katheters	55	Fleer A	56	
laboratoriummanager	79	Geerlings SE	12	
leptospirose	94	Gelinck LBS	47	
lijnsepsis	28,55	Gemert-Pijnen JE van	99	
logbook	75	Griethuysen A	58	
luchtweginfecties	8	Hartskeerl RA	94	
malaria-middelen	22	Hendrix MGR	99,85	
management	79	Heuvelink AE	40	
MERIAL-award	83	Hoepelman AIM	12	
moleculaire detectie	85	Horrevorts AM	3,39,69,93	
MRSA	99	Jager CM de	40	
MRSA-detectie	58	Kabel PJ	110	
neurocystercicose	53	Kager PA	22	
NVAMM	75	Keulen PHJ van	55	
opleider	78	Kluytmans JAJW	55,58	
opleiding	70	Kluytmans-van den Bergh MF	55	
polyneuropathie	17	Kroes ACM	47,106	
postacademisch onderwijs	79	Kullberg BJ	5	
protocol adherentie	99	Maas HME	40	
SARS	39,106	Mascini EM	55	
screening zwangeren	110	Meer JWM van der	5	
Shiga-toxine	40	Meiland R	12	
Spaanse griep	84	Meis JF	55	
STEC	40	Mulder B	85	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	8	Nabuurs-Franssen MH	17	
surveillance	40	Neeling H de	58	
syndroom van Weil	94	Netea MG	5	
toetsing	75	Peeters MF	2,29,38,92,110	
tuberculosis	8,27,85	Pelt W van	40	
UEMS	70,75,78,79,80	Rijn M van	53,69,75	
urine-weginfecties	12	Sauerwein RW	53	
virulentiefactoren	12	Schaper NC	17	
visie	2,38,68,92	Schelhaas E	85	
voetlucis	17	Schellens PJ	99	
werkgroep West	66	Spaan WJM	106	
West-Nile-virus	47	Stobberingh AGM	83	
WIP	67	Stuyt RJL	5	
zoönosen	94	Tack CJ	5	
		Valk PDLPM van der	85	

Verkorte productinformatie VFEND (19 november 2003).

Samenstelling: VFEND 50 mg en 200 mg filmomhulde tabletten bevatten respectievelijk 50 mg en 200 mg voriconazol. VFEND I.V., poeder voor oplossing voor intraveneuze infusie, bevat 200 mg voriconazol per flacon, overeenkomend met een 10 mg/ml oplossing na reconstitutie. **Indicaties:** Behandeling van invasieve aspergillose, fluconazol-resistente ernstige invasieve *Candida*-infecties, ernstige schimmelinfecties, veroorzaakt door *Scedosporium* spp en *Fusarium* spp. VFEND dient in eerste instantie te worden toegediend aan immuno-gecompromiteerde patiënten met progressieve, mogelijk levensbedreigende infecties. **Farmacotherapeutische groep:** antimycotica voor systemisch gebruik; triazolderivaten; ATC code: J02A C. **Dosering:** Opladschema (dag 1): I.V.: 6 mg/kg om de 12 uur; Oraal: 400 mg om de 12 uur (patiënten \geq 40 kg) of 200 mg om de 12 uur (patiënten < 40 kg). Onderhoudsdosis: I.V.: 4 mg/kg, tweemaal daags; Oraal: 200 mg tweemaal daags (patiënten \geq 40 kg) of 100 mg tweemaal daags (patiënten < 40 kg). **Contra-indicaties:** Overgevoeligheid voor voriconazol of één van de hulpstoffen; gelijktijdige toediening van CYP3A4-substraten (terfenadine, astemizol, cisapride, pimozone, kinidine), rifampicine, carbamazepine, fenobarbital, ergotamine-alkaloïden (ergotamine, dihydroergotamine) en sirolimus. **Waarschuwingen en voorzorgen:** Voorzichtigheid bij toediening aan patiënten met een overgevoeligheid voor andere azolen. Ernstige hepatische reacties, die meestal reversibel zijn na staken van de VFEND toediening, kunnen optreden. Routinematige controle van de leverfunctie dient therapeutisch beleid te zijn. Acute nierfalen kan voorkomen, daarom is een controle van de nierfunctie noodzakelijk. Onder de leeftijd van twee jaar is de veiligheid en effectiviteit van VFEND niet aangetoond. Bij gelijktijdig gebruik met fenytoïne of rifabutine wordt een zorgvuldige controle van de fenytoïnespiegels of bloedceltelling (bij rifabutine) aanbevolen. De tabletten bevatten lactose en mogen dus niet gebruikt worden bij Lapp-lactase deficiëntie of glucose-galactose-malabsorptie patiënten. **Interacties:** In de volledige SPC tekst worden de interacties beschreven met rifampicine, carbamazepine, fenobarbital, cimetidine, ranitidine, macrolide-antibiotica, terfenadine, astemizol, cisapride, pimozone, kinidine, sirolimus, ergotamine-alkaloïden, ciclosporine, tacrolimus, orale anticoagulantia (warfarine en andere) sulfonyleureum-derivaten (tolbutamide, glibpizide en glyburide), statinen, benzodiazepinen, vinca-alkaloïden, prednisolon, digoxine, mycofenolzuur, fenytoïne, rifabutine, omeprazol, indinavir, andere HIV- protease remmers en niet-nucleoside reverse-transcriptaseremmers (NRTI; b.v. efavirenz en nevirapine). **Bijwerkingen:** De meest gerapporteerde ongewenste voorvallen tijdens klinisch onderzoek waren: visuele stoornissen, koorts, huiduitslag, braken, misselijkheid, diarree, hoofdpijn, perifeer oedeem en abdominale pijn. De ernst van deze ongewenste voorvallen was meestal weinig ernstig tot matig ernstig. Tijdens een behandeling met VFEND deden zich bij de patiënten zelden ernstige huidreacties voor, waaronder het syndroom van Stevens-Johnson, toxische epidermale necrolyse en erythema multiforme. Huidreacties als gevolg van overgevoeligheid voor licht zijn gerapporteerd. Voriconazol werd zelden in verband gebracht met gevallen van ernstige levertoxiciteit bij patiënten met andere ernstige, onderliggende aandoeningen. Tijdens infusie van de intraveneuze formulering van voriconazol bij gezonde personen, zijn anafylactoïd-achtige reacties, waaronder blozen, koorts, zweten, tachycardie, beklemd gevoel op de borst, dyspnoe, flauwte, misselijkheid, jeuk en huiduitslag voorgekomen. **Afleveringsstatus:** UR. **Verpakking en Registratienummer:** VFEND, filmomhulde tabletten 50 mg: EU/1/02/212/006 (30 stuks) EU/1/02/212/007 (50 stuks) VFEND, filmomhulde tabletten 200 mg: EU/1/02/212/018 (30 stuks) EU/1/02/212/019 (50 stuks) VFEND, poeder voor oplossing voor intraveneuze infusie 200 mg: EU/1/02/212/025 (1 injectieflacon) **Vergoeding en prijzen:** VFEND, filmomhulde tabletten worden volledig vergoed binnen het GVS, VFEND I.V. is niet opgenomen in het GVS. Voor prijzen zie Z-Index tax. **Voor medische informatie over dit product belt u met 0800-MEDINFO (6334636).** De volledige productinformatie (SPC van juni 2002) is op aanvraag verkrijgbaar **Registratiehouder:** Pfizer EEIG, Hillbottom road, High Wycombe, Buckinghamshire HP 12 4PX Verenigd Koninkrijk. **Neem voor correspondentie en inlichtingen contact op met de lokale vertegenwoordiger: Pfizer bv, Postbus 37, 2900 AA Capelle a/d IJssel.**

09-12-2003/RK/VOR-verkorteSPC- 09DEC03.doc

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 voor aankondigingen van promoties e.d., evenementen en voor 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, correspondentie-adres van een auteur met telefoonnummer (eventuele telefaxnummers), e-mailadressen, financiers;
- samenvatting in het *Nederlands* met een werktitel (max. 3 woorden); voeg drie tot maximaal vijf trefwoorden toe (bv. "Medical Subject Heading (MeSH)" list of *Index Medicus*);
- Engelstalige titel, summary en key-words als boven;
- Geef duidelijk aan welke delen van de tekst cursief dienen te worden afgedrukt (b.v. namen van micro-organismen).

Oorspronkelijk onderzoeks- & 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.

Visie

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 (1.500 woorden) en maximaal vijf literatuurverwijzingen.

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 paginanummer die verschillen van het eerste paginanummer, 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 farmaca

Medicamenten of farmaca worden alleen met generische naam vermeld.

Bacteriële 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 bacterienaam dient deze voluit te worden geschreven in cursief. Daarna dient de genus-naam te worden afgekort tot de eerste letter ('*S. aureus*', niet '*Staph. aureus*'). 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, bv. '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.'.

Tabellen en figuren

Deze dienen op een apart vel te worden aangeleverd, of digitaal in de vorm van een .jpg, .jpeg, .tif of .bmp-bestand met een hoge resolutie. Figuren dienen vakkundig te zijn vervaardigd. De afbeeldingen moeten zoveel mogelijk contrasterend zijn. Lever bij de figuren en foto's graag de onderschriften aan het eind van het document.

Foto's dienen als glanzende zwart/wit foto's in viervoud te worden ingezonden, verpakt in karton. Aan de achterkant van uw illustratiemateriaal het nummer van de figuur of foto, de naam van de auteur, en een pijl om de bovenkant van de illustratie aan te geven. **Schrijf niet direct op de achterkant van het materiaal.**

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.

Redactiesecretariaat

Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie

Postbus 2122

2400 CC Alphen aan den Rijn

tel. 0172 476 191

fax. 0172 471 882

per e-mail: brouwer@zuidencomm.nl.

